

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045545**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.12.05

(21) Номер заявки
201992179

(22) Дата подачи заявки
2018.04.27

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛА, НАПРАВЛЕННЫЕ ПРОТИВ ГЕНА 3 АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ (LAG-3) И ПУТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/491,221; 62/578,215; 62/614,998;
62/625,276; 62/657,384

(32) 2017.04.27; 2017.10.27; 2018.01.08;
2018.02.01; 2018.04.13

(33) US

(43) 2020.04.17

(86) PCT/US2018/030027

(87) WO 2018/201096 2018.11.01

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ТЕСАРО, ИНК.; АНАПТИСБИО,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Джун Хелен Тони, Кери Мэрилин,
Бауэрс Питер, Кинг Дэвид Дж.,
Бобилев Дмитрий, Гхош Сримойи,
Хуан Баочуань, Дженкинс Дэвид (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A2-2016126858
ANDREWS LAWRENCE P. ET AL.: "LAG3
(CD223) as a cancer immunotherapy target",
IMMUNOLOGICAL REVIEWS, vol. 276, no. 1, Sp.
Iss. SI, 1 March 2017 (2017-03-01), pages 80-96,
XP002781851, DOI: 10.1111/IMR.12519, table 1
EP-A1-1987839
WO-A2-2010019570
WO-A1-2014140180
WO-A1-2014008218

(57) В настоящем изобретении предусмотрены средства на основе антитела, которые связываются с белком гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3). В явной форме предусмотрены конкретные последовательности полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептида легкой цепи иммуноглобулина. Также предусмотрены связанные с ними нуклеиновые кислоты, векторы, композиции и способы применения средств на основе антитела к LAG-3 для лечения нарушения или заболевания, которое чувствительно к подавлению LAG-3, такого как, например, рак или инфекционное заболевание.

B1

045545

045545

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/491221, поданной 27 апреля 2017 г.; предварительной заявке на патент США № 62/578215, поданной 27 октября 2017 г.; предварительной заявке на патент США № 62/614998, поданной 8 января 2018 г.; предварительной заявке на патент США № 62/625276, поданной 1 февраля 2018 г.; и предварительной заявке на патент США № 62/657384, поданной 13 апреля 2018 г., каждая из которых включена посредством ссылки во всей своей полноте.

Перечень последовательностей

Настоящее описание ссылается на перечень последовательностей, представленный в электронной форме в виде файла ASCII.txt под названием "TSR-007WO_ST25.txt", который был создан 23 апреля 2018 г. и имеет размер 39964 байта.

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к средствам на основе антитела, которые связываются с полипептидом гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3).

Предпосылки создания изобретения

Рак представляет собой серьезную проблему общественного здравоохранения, при этом ожидается, что приблизительно 600920 человек умрут от рака в Соединенных Штатах Америки только в 2017 г. согласно American Cancer Society, Cancer Facts & Figures 2017 (<https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2017.html>). Следовательно, сохраняется потребность в эффективных средствах терапии для лечения пациентов, имеющих рак.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предусмотрены, среди прочего, средства на основе антитела, которые связываются с эпитопом полипептида гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3), и различные композиции и способы, связанные с ними, включая, например, полипептиды, нуклеиновые кислоты, клетки, а также различные методики и т.д.

В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), содержит одну, две или три аминокислотные последовательности, выбранные из (a) аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 5, (b) аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 6 и (c) аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 7.

В некоторых вариантах осуществления полипептид представляет собой вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий одну, две или три CDR, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 7, или содержит его.

В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), где указанный полипептид содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR-H1, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 5, и/или CDR-H2, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 6; и/или CDR-H3, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, где указанный полипептид содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR-H1, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 5; CDR-H2, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 6; и CDR-H3, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 7.

В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), содержит одну, две или три аминокислотные последовательности, выбранные из (a) аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 8, (b) аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 9 и (c) аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления полипептид представляет собой вариабельный домен легкой цепи, содержащий одну, две или три CDR, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 8, (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 9, и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10, или содержит его.

В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), содержит CDR-L1, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 8; и/или CDR-L2, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 9; и/или CDR-L3, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или 90% идентичной SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит CDR-L1, определенную аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 80, 85 или

держашую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 8, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 9, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит по меньшей мере одну дисульфидную связь, образованную первым цистеином и вторым цистеином; где первый цистеин выбран из остатка 41, 115, 147, 160, 216, 239, 242, 274, 334, 380 и 438 из SEQ ID NO: 1, а второй цистеин выбран из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит по меньшей мере одну дисульфидную связь, образованную первым цистеином и вторым цистеином; где первый цистеин выбран из остатка 41, 115, 147, 160, 216, 239, 242, 274, 334, 380 и 438 из SEQ ID NO: 1, а второй цистеин выбран из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит по меньшей мере одну дисульфидную связь, образованную первым цистеином и вторым цистеином; где первый цистеин выбран из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2, а второй цистеин выбран из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2.

В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), содержит аминокислотную последовательность варибельной области тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3, и/или аминокислотную последовательность варибельной области легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит тяжелую цепь, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 1, и/или легкую цепь, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит по меньшей мере одну дисульфидную связь, образованную первым цистеином и вторым цистеином; где первый цистеин выбран из остатка 41, 115, 147, 160, 216, 239, 242, 274, 334, 380 и 438 из SEQ ID NO: 1, а второй цистеин выбран из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит по меньшей мере одну дисульфидную связь, образованную первым цистеином и вторым цистеином; где первый цистеин выбран из остатка 41, 115, 147, 160, 216, 239, 242, 274, 334, 380 и 438 из SEQ ID NO: 1, а второй цистеин выбран из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит по меньшей мере одну дисульфидную связь, образованную первым цистеином и вторым цистеином; где первый цистеин выбран из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2, а второй цистеин выбран из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2.

В вариантах осуществления полипептид содержит гликозилированный аспарагин в тяжелой цепи. В вариантах осуществления гликозилированный аспарагин представляет собой N291 тяжелой цепи. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G1F. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G2F. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает Man-5. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F и G1F. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F, G1F, G2F и Man-5.

В некоторых вариантах осуществления полипептид (по настоящему изобретению связывает ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3) и/или подавляет взаимодействие между LAG-3 и MHC II.

В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), является человеческим или гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, является средством на основе антитела, которое представляет собой варибельный домен человеческого антитела или содержит его. В некоторых вариантах осуществления полипептид, который способен связывать LAG-3, является средством на основе антитела, которое представляет собой варибельный домен гуманизированного антитела или содержит его.

В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность по существу идентична эталонной аминокислотной последовательности в том, что она либо идентична по последовательности, либо содержит от 1 до 5 аминокислотных замен по сравнению с эталонной последовательностью. В вариантах осуществления аминокислотная последовательность по существу идентична представленной эталонной последовательности (например, любой из SEQ ID NO: 1-10 и 21-40). В вариантах осуществления аминокислотная последовательность идентична представленной эталонной последовательности (например, любой из SEQ ID NO: 1-10 и 21-40). В вариантах осуществления аминокислотная последовательность содержит от 1 до 5 аминокислотных замен по сравнению с представленной эталонной последовательностью (например, от 1 до 5 аминокислотных замен по сравнению с любой из SEQ ID NO: 1-10 и 21-40).

В вариантах осуществления аминокислотная последовательность по существу идентична SEQ ID NO: 1. В вариантах осуществления аминокислотная последовательность идентична SEQ ID NO: 1. В ва-

следовательности нуклеиновой кислоты, выбранные из (а) последовательности нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 15, (b) последовательности нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 16 и (c) последовательности нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид, который способен связывать LAG-3, содержит одну, две или три последовательности нуклеиновой кислоты, выбранные из: (а) последовательности нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 18, (b) последовательности нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 19 и (c) последовательности нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 20.

Предусмотрены векторы, содержащие выделенную последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, который способен связывать LAG-3, и выделенные клетки, содержащие указанные векторы.

В некоторых вариантах осуществления предусмотрены композиции, содержащие полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3). В некоторых вариантах осуществления предусмотрены композиции, содержащие выделенные нуклеиновые кислоты и/или векторы для полипептида, который способен связывать LAG-3. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 (например, средство на основе полипептида, нуклеиновой кислоты и/или вектора) является выделенным. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела (например, средство на основе полипептида, нуклеиновой кислоты и/или вектора) может быть очищено до более 95 или 99% чистоты. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах осуществления предусмотрены выделенные клетки, содержащие нуклеиновую кислоту и/или вектор, кодирующие полипептид, который способен связывать LAG-3. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

Также предусмотрены средства на основе антитела, содержащие полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела связывается с LAG-3 с K_D от приблизительно 1 пикомоль/л (пМ) до приблизительно 100 микромоль/л (мкМ). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела связывается с LAG-3 с K_D в диапазоне от приблизительно 5 пМ до приблизительно 5 мкМ. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела связывается с LAG-3 с K_D в диапазоне от приблизительно 10 пМ до приблизительно 100 наномоль/л (нМ). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела связывается с LAG-3 с K_D в диапазоне от приблизительно 50 пМ до приблизительно 50 наномоль/л (нМ). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела связывается с LAG-3 с K_D в диапазоне от приблизительно 100 пМ до приблизительно 10 наномоль/л (нМ).

Также предусмотрены способы индуцирования иммунного ответа у млекопитающего, у которого имеется нарушение, которое чувствительно к подавлению гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3) (средства, воздействующего на LAG-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3) (средства, воздействующего на LAG-3), эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием белка 1 запрограммированной клеточной смерти (PD-1) (средства, воздействующего на PD-1), и эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием Т-клеточного содержащего домены иммуноглобулина и муцина белка 3 (TIM-3) (средства, воздействующего на TIM-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества полипептида, который способен связывать LAG-3. В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества выделенной нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, который способен связывать LAG-3. В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества вектора, который кодирует полипептид, способный связывать LAG-3. В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества выделенной клетки, содержащей нуклеиновую кислоту или вектор, кодирующие полипептид, который способен связывать LAG-3. В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества композиции, содержащей полипептид, нуклеиновую кислоту, вектор или клетку, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления после введения полипептида, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки или композиции по настоящему изобретению индуцируется иммунный ответ у млекопитающего. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой TSR-042. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой TSR-033. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой TSR-042, и средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой TSR-033.

Также предусмотрены способы усиления иммунного ответа или повышения активности иммунной клетки у млекопитающего, у которого имеется нарушение, которое чувствительно к подавлению гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием гена 3

активации лимфоцитов (LAG-3) (средства, воздействующего на LAG-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3) (средства, воздействующего на LAG-3), эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием белка 1 запрограммированной клеточной смерти (PD-1) (средства, воздействующего на PD-1), и эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием Т-клеточного содержащего домены иммуноглобулина и муцина белка 3 (TIM-3) (средства, воздействующего на TIM-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества полипептида, способного связывать LAG-3, или выделенной нуклеиновой кислоты, кодирующей такой полипептид, или вектора, содержащего такую нуклеиновую кислоту, или выделенной клетки, содержащей вектор, или композиции, содержащей любое из предшествующего, в результате чего у млекопитающего индуцируется иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ представляет собой гуморальный или опосредованный клетками иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ представляет собой CD4 или CD8 Т-клеточный ответ. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ представляет собой В-клеточный ответ. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой TSR-042. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой TSR-033. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой TSR-042, и средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой TSR-033.

Также предусмотрены способы лечения нарушения у млекопитающего, которое чувствительно к подавлению гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3) (средства, воздействующего на LAG-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3) (средства, воздействующего на LAG-3), эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием белка 1 запрограммированной клеточной смерти (PD-1) (средства, воздействующего на PD-1), и эффективного количества средства, которое способно подавлять передачу сигналов с участием Т-клеточного содержащего домены иммуноглобулина и муцина белка 3 (TIM-3) (средства, воздействующего на TIM-3). В некоторых вариантах осуществления такой способ включает введение эффективного количества полипептида, способного связывать LAG-3, или выделенной нуклеиновой кислоты, кодирующей такой полипептид, или вектора, содержащего такую нуклеиновую кислоту, или выделенной клетки, содержащей вектор, или композиции, содержащей любое из предшествующего, млекопитающему, у которого имеется нарушение, которое чувствительно к подавлению LAG-3, вследствие чего осуществляют лечение нарушения у млекопитающего. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой TSR-042. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой TSR-033. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой TSR-042, и средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой TSR-033.

В вариантах осуществления рак представляет собой аденокарциному, рак эндометрия, рак молочной железы, рак яичника, рак шейки матки, рак фаллопиевой трубы, рак яичка, первичный рак брюшины, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак тонкого кишечника, плоскоклеточную карциному ануса, плоскоклеточную карциному полового члена, плоскоклеточную карциному шейки матки, плоскоклеточную карциному влагалища, плоскоклеточную карциному вульвы, саркому мягких тканей, меланому, почечноклеточную карциному, рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак желудка, рак мочевого пузыря, рак желчного пузыря, рак печени, рак щитовидной железы, рак гортани, рак слюнной железы, рак пищевода, рак головы и шеи, плоскоклеточную карциному головы и шеи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, мезотелиому, карциному из клеток Меркеля, саркому, глиобластому, гематологический рак, множественную миелому, В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина/первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, хронический миелогенный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, неходжкинскую лимфому, нейробластому, опухоль CNS, диффузную глиому ствола головного мозга (DIPG), саркому Юинга, эмбриональную рабдомиосаркому, остеосаркому или опухоль Вильмса. В вариантах осуществления рак является MSS или MSI-L, характеризуется микросателлитной нестабильностью, является MSI-H, имеет высокую TMB, имеет высокую TMB и является MSS или MSI-L, имеет высокую TMB и является MSI-H, имеет дефектную систему репарации ошибочного спаривания ДНК, имеет дефект в гене репарации ошибочного спаривания ДНК, представляет собой гипермутированный рак, представляет собой рак HRD или HRR, предусматривает мутацию в полимеразе-дельта (POLD) или предусматривает мутацию в полимеразе-эпсилон (POLE).

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой В-крупноклеточную лимфому, тимомиому, острый миелоидный лейкоз, опухоль яичка, аденокарциному легкого, немелкоклеточный рак легкого, светлоклеточный рак почки, рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы (TNBC), рак молочной железы, отличный от трижды негативного (отличный от TNBC), рак желудка,

плоскоклеточный рак легкого, мезотелиому, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак головы и шеи, меланому, гепатоцеллюлярную карциному, рак носоглотки, рак пищевода, аденокарциному толстой кишки, колоректальный рак, карциному прямой кишки, холангиокарциному, рак эндометрия матки, саркому, рак мочевого пузыря, карциному щитовидной железы, папиллярный рак почки, мультиформную глиобластому, рак печени, карциносаркому матки, феохромоцитому, высокодифференцированную глиому, хромофобный почечноклеточный рак, рак надпочечника или увеальную меланому. В вариантах осуществления рак является MSS или MSI-L, характеризуется микросателлитной нестабильностью, является MSI-H, имеет высокую TMB, имеет высокую TMB и является MSS или MSI-L, имеет высокую TMB и является MSI-H, имеет дефектную систему репарации ошибочного спаривания ДНК, имеет дефект в гене репарации ошибочного спаривания ДНК, представляет собой гипермутированный рак, представляет собой рак HRD или HRR, предусматривает мутацию в полимеразе-дельта (POLD) или предусматривает мутацию в полимеразе-эпсилон (POLE).

В вариантах осуществления рак представляет собой меланому, почечноклеточную карциному, рак легкого, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак желчного пузыря, рак гортани, рак печени, рак щитовидной железы, рак желудка, рак слюнной железы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак эндометрия, рак яичника или карциному из клеток Меркеля.

В вариантах осуществления рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого, рак эндометрия, почечноклеточный рак, рак шейки матки, рак желудка, колоректальный рак или трижды негативный рак молочной железы (TNBC).

В вариантах осуществления рак имеет дефицит репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицит гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR). В вариантах осуществления рак представляет собой рак эндометрия, необязательно рак эндометрия MSI-H или MSS/MSI-L. В вариантах осуществления рак представляет собой рак эндометрия (например, рак эндометрия MSI-H или MSS/MSI-L). В вариантах осуществления рак представляет собой рак MSI-H, предусматривающий мутацию в POLE или POLD (например, неэндометриальный рак MSI-H, предусматривающий мутацию в POLE или POLD).

В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы). В вариантах осуществления рак представляет собой рак яичника (например, эпителиальный рак яичника). В вариантах осуществления рак представляет собой рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого). В вариантах осуществления рак представляет собой меланому. В вариантах осуществления рак представляет собой острый миелоидный лейкоз. В вариантах осуществления рак представляет собой острый лимфобластный лейкоз. В вариантах осуществления рак представляет собой неходжкинскую лимфому. В вариантах осуществления рак представляет собой лимфому Ходжкина. В вариантах осуществления рак представляет собой нейробластому. В вариантах осуществления рак представляет собой опухоль CNS. В вариантах осуществления рак представляет собой диффузную глиому ствола головного мозга (DIPG). В вариантах осуществления рак представляет собой саркому Юинга. В вариантах осуществления рак представляет собой эмбриональную рабдомиосаркому. В вариантах осуществления рак представляет собой остеосаркому. В вариантах осуществления рак представляет собой опухоль Вильмса. В вариантах осуществления рак представляет собой саркому мягких тканей (например, лейомиосаркому).

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак, такой как немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), печеночноклеточный рак, рак почки, меланома, рак шейки матки, колоректальный рак, плоскоклеточная карцинома аногенитальной области, рак головы и шеи, трижды негативный рак молочной железы, рак яичника или рак эндометрия. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак с микросателлитной нестабильностью. В некоторых вариантах осуществления микросателлитная нестабильность считается высокой, при этом нестабильность значительно выше, чем нестабильность, наблюдаемая в контрольной клетке (например, статус MSI-H). В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль на поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль на поздней стадии, такая как немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), печеночноклеточный рак, рак почки, меланома, рак шейки матки, колоректальный рак, плоскоклеточная карцинома аногенитальной области, рак головы и шеи, трижды негативный рак молочной железы, рак яичника или рак эндометрия. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль на поздней стадии с микросателлитной нестабильностью.

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется гематологический рак, такой как диффузная В-крупноклеточная лимфома ("DLBCL"), лимфома Ходжкина ("HL"), неходжкинская лимфома ("NHL"), фолликулярная лимфома ("FL"), острый миелоидный лейкоз ("AML"), острый лимфобластный лейкоз ("ALL") или множественная миелома ("MM"). В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется гематологический рак с микросателлитной нестабильностью.

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак, характеризующийся экспрессией

PD-1 и/или PD-L1. В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется высокой экспрессией PD-1 и/или PD-L1 (например, высокой экспрессией PD-1 и/или высокой экспрессией PD-L1). В определенном варианте осуществления рак, характеризующийся экспрессией PD-1 и/или PD-L1, представляет собой рак головы и шеи, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), рак почки, рак мочевого пузыря, меланому, карциному из клеток Меркеля, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, рак матки, рак эндометрия, рак яичника, рак фаллопиевой трубы, рак молочной железы, рак предстательной железы, опухоль слюнной железы, тимому, аденокортикальную карциному, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак аппендикса, карциному уротелиальных клеток или плоскоклеточную карциному (например, легкого; аногенитальной области, в том числе ануса, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы; или пищевода). В некоторых вариантах осуществления рак, характеризующийся экспрессией PD-1 и/или PD-L1, представляет собой анальный рак, рак фаллопиевой трубы, рак яичника или рак легкого.

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак головы и шеи, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), рак почки, рак мочевого пузыря, меланома, карцинома из клеток Меркеля, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, рак матки, рак эндометрия, рак яичника, рак фаллопиевой трубы, рак молочной железы, рак предстательной железы, опухоль слюнной железы, тимомы, аденокортикальная карцинома, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак аппендикса, карцинома уротелиальных клеток или плоскоклеточная карцинома.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак на поздней стадии. В вариантах осуществления рак представляет собой метастатический рак. В вариантах осуществления рак представляет собой рак MSI-H. В вариантах осуществления рак представляет собой рак MSS. В вариантах осуществления рак представляет собой POLE-мутантный рак. В вариантах осуществления рак представляет собой POLD-мутантный рак. В вариантах осуществления рак представляет собой рак с высокой ТМВ. В вариантах осуществления рак ассоциирован с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. В вариантах осуществления солидная опухоль находится на поздней стадии. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой метастатическую солидную опухоль. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой солидную опухоль MSI-H. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой солидную опухоль MSS. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой POLE-мутантную солидную опухоль. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой POLD-мутантную солидную опухоль. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой солидную опухоль с высокой ТМВ. В вариантах осуществления солидная опухоль ассоциирована с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления рак представляет собой неэндометриальный рак (например, неэндометриальную солидную опухоль). В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак на поздней стадии. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой метастатический рак. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак MSI-H. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак MSS. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой POLE-мутантный рак. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой солидную опухоль (например, солидную опухоль MSS, солидную опухоль MSI-H, POLD-мутантную солидную опухоль или POLE-мутантную солидную опухоль). В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак с высокой ТМВ. В вариантах осуществления неэндометриальный рак ассоциирован с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления рак представляет собой рак эндометрия (например, солидную опухоль). В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой рак на поздней стадии. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой метастатический рак. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой рак эндометрия MSI-H. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой рак эндометрия MSS. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой POLE-мутантный рак эндометрия. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой POLD-мутантный рак эндометрия. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой рак эндометрия с высокой ТМВ. В вариантах осуществления рак эндометрия ассоциирован с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления рак представляет собой рак легкого (например, солидную опухоль). В вариантах осуществления рак легкого представляет собой рак легкого на поздней стадии. В вариантах

В вариантах осуществления рак представляет собой остеосаркому (OS). В вариантах осуществления остеосаркома представляет собой остеосаркому на поздней стадии. В вариантах осуществления остеосаркома представляет собой метастатическую остеосаркому. В вариантах осуществления остеосаркома представляет собой остеосаркому MSI-H. В вариантах осуществления остеосаркома представляет собой остеосаркому MSS. В вариантах осуществления остеосаркома представляет собой POLE-мутантную остеосаркому. В вариантах осуществления остеосаркома представляет собой POLD-мутантную остеосаркому. В вариантах осуществления остеосаркома ассоциирована с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления рак представляет собой саркому мягких тканей. В вариантах осуществления саркома мягких тканей представляет собой саркому мягких тканей на поздней стадии. В вариантах осуществления саркома мягких тканей представляет собой метастатическую саркому мягких тканей. В вариантах осуществления саркома мягких тканей представляет собой саркому мягких тканей MSI-H. В вариантах осуществления саркома мягких тканей представляет собой саркому мягких тканей MSS. В вариантах осуществления саркома мягких тканей представляет собой POLE-мутантную саркому мягких тканей. В вариантах осуществления саркома мягких тканей представляет собой POLD-мутантную саркому мягких тканей. В вариантах осуществления саркома мягких тканей ассоциирована с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR). В вариантах осуществления саркома мягких тканей представляет собой лейомиосаркому.

В вариантах осуществления рак представляет собой опухоль Вильмса. В вариантах осуществления опухоль Вильмса представляет собой опухоль Вильмса на поздней стадии. В вариантах осуществления опухоль Вильмса представляет собой метастатическую опухоль Вильмса. В вариантах осуществления опухоль Вильмса представляет собой опухоль Вильмса MSI-H. В вариантах осуществления опухоль Вильмса представляет собой опухоль Вильмса MSS. В вариантах осуществления опухоль Вильмса представляет собой POLE-мутантную опухоль Вильмса. В вариантах осуществления опухоль Вильмса представляет собой POLD-мутантную опухоль Вильмса. В вариантах осуществления опухоль Вильмса ассоциирована с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления субъекта ранее лечили с помощью одного или более различных методов лечения рака (например, с помощью одного или более из методов хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии).

В вариантах осуществления субъекта ранее лечили с помощью одного другого метода лечения рака (например, с помощью одного или более из методов хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии). В вариантах осуществления субъекта ранее лечили с помощью двух или более других методов лечения рака (например, с помощью одного или более из методов хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии). В вариантах осуществления субъекта ранее лечили с помощью цитотоксической терапии. В вариантах осуществления субъекта ранее лечили с помощью химиотерапии. В вариантах осуществления субъекта ранее лечили с помощью двух других методов лечения рака (например, с помощью одного или более из методов хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии). В вариантах осуществления субъекта ранее лечили с помощью трех других методов лечения рака (например, с помощью одного или более из методов хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии).

В вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, способ дополнительно включает введение одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии, противоангиогенного средства или противовоспалительного средства. В вариантах осуществления способ дополнительно включает применение химиотерапии.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере некоторых пациентов в популяции пациентов, имеющих рак, ранее лечили с помощью химиотерапии (например, химиотерапии на основе платины). Например, пациент, который получал две линии лечения рака, может быть идентифицирован как 2L пациент, имеющий рак (например, 2L пациент, имеющий NSCLC). В вариантах осуществления пациент получал две линии или более линий лечения рака (например, 2L+ пациент, имеющий рак, такой как 2L+ пациент, имеющий рак эндометрия). В вариантах осуществления пациента ранее лечили с помощью средства терапии, направленного против PD-1. В вариантах осуществления пациент ранее получал по меньшей мере одну линию лечения рака (например, пациент ранее получал по меньшей мере одну линию или по меньшей мере две линии лечения рака). В вариантах осуществления пациент ранее получал по меньшей мере одну линию лечения метастатического рака (например, пациент ранее получал одну или две линии лечения метастатического рака).

В вариантах осуществления субъект является неподдающимся лечению с помощью средства, которое подавляет PD-1.

В вариантах осуществления субъект является трудно поддающимся лечению с помощью средства, которое подавляет PD-1.

В вариантах осуществления способ, описанный в настоящем документе, повышает чувствительность субъекта к лечению с помощью средства, которое подавляет PD-1.

В вариантах осуществления субъект содержит истощенную иммунную клетку (например, истощенную иммунную клетку, которая представляет собой истощенную Т-клетку).

В некоторых вариантах осуществления нарушение, подлежащее лечению с помощью способов по настоящему изобретению, представляет собой инфекционное заболевание. В некоторых вариантах осуществления инфекционное заболевание вызвано вирусом или бактерией. В некоторых вариантах осуществления вирус представляет собой вирус иммунодефицита человека (HIV), респираторно-синцициальный вирус (RSV), вирус гриппа, вирус денге, вирус Эпштейна-Барр (EBV), папилломавирус человека (HPV), вирус гепатита В (HBV) или вирус гепатита С (HCV), где необязательно рак представляет собой инфицированный вирусом рак головы и шеи, рак шейки матки, гепатоцеллюлярную карциному или рак носоглотки.

В некоторых вариантах осуществления нарушение, подлежащее лечению с помощью способов по настоящему изобретению, представляет собой аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления аутоиммунное заболевание представляет собой рассеянный склероз, сахарный диабет 1 типа, ревматоидный артрит, склеродермию, болезнь Крона, псориаз, системную красную волчанку (SLE) или язвенный колит.

В вариантах осуществления способы введения средства, воздействующего на LAG-3, описанного в данном документе, дополнительно включают введение другого терапевтического средства или средства лечения. В вариантах осуществления способ дополнительно включает введение одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии, иммунотерапии, противоангиогенного средства или противовоспалительного средства.

В вариантах осуществления субъекту дополнительно вводили или будут вводить ингибитор иммунной контрольной точки, в результате чего млекопитающее получает средство, воздействующее на LAG-3, и ингибитор иммунной контрольной точки (например, один, два или три дополнительных ингибитора иммунной контрольной точки).

В вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PD-1, TIM-3, CTLA-4, TIGIT, CEACAM, VISTA, BTLA, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM, KIR, A2aR, MHC класса I, MHC класса II, GALS, аденозина, TGF β , B7-H1, B7-H4 (VTCN1), OX-40, CD137, CD40, IDO или CSF1R.

В вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является средство, которое подавляет передачу сигнала с участием белка 1 запрограммированной клеточной смерти (PD-1), белок 3, содержащий домены Т-клеточного иммуноглобулина и муцина (TIM-3), ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA-4), белок, содержащий домены Т-клеточного иммуноглобулина и ITIM (TIGIT), индоламин-2,3-диоксигеназу (IDO) или рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R).

Настоящее изобретение также охватывает признание того, среди прочего, что любой из способов, описанных в данном документе, может дополнительно включать введение млекопитающему средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. Средства, которые подавляют передачу сигнала с участием PD-1, включают средства, которые связывают и блокируют рецепторы PD-1 на Т-клетках без запуска трансдукции подавляющего сигнала, средства, которые связываются с лигандами PD-1 с предотвращением их связывания с PD-1, средства, которые обеспечивают и то и другое, и средства, которые предотвращают экспрессию генов, которые кодируют либо PD-1, либо природные лиганды PD-1.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл, токсин или связывающее PD-1 средство. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, представляет собой связывающее PD-1 средство (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления связывающее PD-1 средство выбрано из группы, состоящей из: BGB-A317, BI 754091, IB1308, INCSHR-1210, JNJ-63723283, JS-001, MEDI-0680, MGA-012, ниволумаба, PDR001, пембролизумаба, PF-06801591, REGN-2810, TSR-042 и их производных.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой средство на основе антитела. Средства на основе антитела к PD-1 могут включать любой полипептид или полипептидный комплекс, который содержит структурные элементы иммуноглобулинов, достаточные для обеспечения специфического связывания. Иллюстративные средства на основе антитела включают без ограничения моноклональные антитела, поликлональные антитела, фрагменты антител, такие как Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fd'-фрагменты, Fd-фрагменты, и выделенные CDR или их группы; одноцепочечные Fv; слияния полипептид-Fc; однодоменные антитела (например, однодоменные антитела акулы, такие как IgNAR или их фрагменты); верб-

люжи антитела; маскированные антитела (например, Probody®); малые модульные иммунофармацевтические препараты ("SMIP™"); однопочечные или тандемные диатела (TandAb®); VHH; Anticalin®; минитела Nanobody®; BiTE®; белки с анкириновым повтором или DARPIN®; Avimer®; DART; TCR-подобные антитела; Adnectin®; Affilin®; Trans-body®; Affibody®; TrimerX®; MicroProtein; Fynomer®, Centytrin® и KALBITOR®. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой моноклональное антитело или его производное. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой антитело к PD-1, антитело к PD-L1 или его производное. Антитела к PD-1 и PD-L1 включают, например, атезолизумаб, авелумаб, BGB-A317, BI 754091, CX-072, дурвалумаб, FAZ053, IBI308, INCSHR-1210, JNJ-63723283, JS-001, LY3300054, MEDI-0680, MGA-012, ниволумаб, миламолекулу к PD-L1, PDR001, пембролизумаб, PF-06801591, REGN-2810, TSR-042, любое из антител, раскрытых в WO2014/179664, и любые их производные. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой TSR-042. В некоторых определенных вариантах осуществления средство включает комбинации средств, которые подавляют передачу сигнала с участием PD-1.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой средство на основе антитела к PD-L1/L2. В вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-L1/L2 представляет собой антитело к PD-L1. В вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-L1 представляет собой атезолизумаб, авелумаб, CX-072, дурвалумаб, FAZ053, LY3300054, миламолекулу к PD-L1 или их производные.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в дозе, составляющей от приблизительно 500 мг/пациент до приблизительно 1000 мг/пациент. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в дозе, составляющей приблизительно 500 мг/пациент. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1000 мг/пациент. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят пациенту один раз в три недели. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в течение множества циклов. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в течение 2, 3, 4, 5, 6 или больше циклов. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в течение трех, четырех или пяти циклов. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в течение четырех циклов. В вариантах осуществления после третьего, четвертого или пятого цикла средство, которое подавляет PD-1, вводят в более высокой дозе один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в более высокой дозе один раз в 6 недель. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг/пациент. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в более высокой дозе, составляющей приблизительно 1000 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели на протяжении 3, 4 или 5 циклов с последующей второй дозой, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели на протяжении 3 циклов с последующей второй дозой, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели на протяжении 4 циклов с последующей второй дозой, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели на протяжении 5 циклов с последующей второй дозой, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления вторую дозу, составляющую 1000 мг, вводят один раз в 6 недель. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства на основе антитела к LAG-3 (например, описанного в данном документе). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1.

В некоторых родственных вариантах осуществления введение средства на основе антитела к LAG-3 обеспечивает улучшение ответа субъекта на средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых родственных вариантах осуществления субъект является невосприимчивым к средству, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых родственных вариантах осуществления субъект является рефрактерным к средству, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых родственных вариантах осуществления субъект преодолевает невосприимчивость к средству, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, после лечения с помощью реагента, представляющего собой средство на основе антитела к LAG-3. В некоторых родственных вариантах осуществления введение средства на основе антитела к LAG-3 повышает чувствительность субъекта к средству, ко-

торое подавляет передачу сигнала с участием PD-1.

Настоящее изобретение также охватывает признание того, среди прочего, что любой из вышеупомянутых способов может дополнительно включать введение млекопитающему средства, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл, токсин или связывающее TIM-3 средство.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, представляет собой связывающее TIM-3 средство (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В некоторых вариантах осуществления связывающее TIM-3 средство представляет собой средство на основе антитела. Средства на основе антитела к TIM-3 могут включать любой полипептид или полипептидный комплекс, который содержит структурные элементы иммуноглобулинов, достаточные для обеспечения специфического связывания. Иллюстративные средства на основе антитела включают без ограничения моноклональные антитела, поликлональные антитела, фрагменты антител, такие как Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fd'-фрагменты, Fd-фрагменты, и выделенные CDR или их наборы; одноцепочечные Fv; слияния полипептид-Fc; однодоменные антитела (например, однодоменные антитела акулы, такие как IgNAR или их фрагменты); верблюжьи антитела; маскированные антитела (например, Probody®); малые модульные иммунофармацевтические препараты ("SMIP™"); одноцепочечные или тандемные диатела (TandAb®); VHH; Anticalin®; минитела Nanobody®; BiTE®; белки с анкириновым повтором или DARPIN®; Avimer®; DART; TCR-подобные антитела; Adnectin®; Affilin®; Trans-body®; Affibody®; TrimerX®; MicroProtein; Fynomer®, Centygin® и KALBITOR®. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, представляет собой моноклональное антитело или его производное. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, представляет собой антитело к TIM-3 или его производное. Антитела к TIM-3 включают, например, MBG453, LY3321367, Sym023, любое из антител, раскрытых в WO 2016/161270, и любые их производные. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, представляет собой TSR-022. В некоторых определенных вариантах осуществления средство включает комбинации средств, которые подавляют передачу сигнала с участием TIM-3.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 100-1500 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 100-500 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1000-1500 мг.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 100 мг; постоянной дозе приблизительно 200 мг; постоянной дозе приблизительно 300 мг; постоянной дозе приблизительно 400 мг; постоянной дозе приблизительно 500 мг; постоянной дозе приблизительно 600 мг; постоянной дозе приблизительно 700 мг; постоянной дозе приблизительно 800 мг; постоянной дозе приблизительно 900 мг; постоянной дозе приблизительно 1000 мг; постоянной дозе приблизительно 1100 мг; постоянной дозе приблизительно 1200 мг; постоянной дозе приблизительно 1300 мг; постоянной дозе приблизительно 1400 мг или постоянной дозе приблизительно 1500 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 100 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 200 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 300 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 400 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 500 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 600 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 700 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 800 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 900 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1000 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1100 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1200 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1300 мг. В вариантах осуществле-

ния средство, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1400 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1500 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет ТИМ-3, вводят с интервалом введения один раз в неделю, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 5 недель или один раз в 6 недель. В вариантах осуществления средство, которое подавляет ТИМ-3, вводят с интервалом введения один раз в 2 недели. В вариантах осуществления средство, которое подавляет ТИМ-3, вводят с интервалом введения один раз в 3 недели. В вариантах осуществления средство, которое подавляет ТИМ-3, вводят на протяжении периода, составляющего по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 или 20 недель. В вариантах осуществления средство, которое подавляет ТИМ-3, вводят внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3, вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства на основе антитела к LAG-3 (например, описанного в данном документе). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3, и лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3, вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства на основе антитела к LAG-3 и лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3, и/или лечение с помощью средства на основе антитела к LAG-3. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, и/или средство, которое подавляет ТИМ-3, вводят в пониженной дозе.

В некоторых родственных вариантах осуществления введение средства на основе антитела к LAG-3 и средства, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3, улучшает ответ субъекта на средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых родственных вариантах осуществления субъект является невосприимчивым к средству, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых родственных вариантах осуществления субъект является рефрактерным к средству, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых родственных вариантах осуществления субъект преодолевает устойчивость к средству, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, после лечения с помощью средства на основе антитела к LAG-3 и средства, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3. В некоторых родственных вариантах осуществления введение средства на основе антитела к LAG-3 и средства, которое подавляет передачу сигнала с участием ТИМ-3, улучшает ответ субъекта на средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл, токсин или связывающее CTLA-4 средство. В некоторых вариантах осуществления связывающее CTLA-4 средство представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор TIGIT. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TIGIT представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл, токсин или связывающее TIGIT средство. В некоторых вариантах осуществления связывающее TIGIT средство представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор IDO. В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл, токсин или связывающее IDO средство. В некоторых вариантах осуществления связывающее IDO средство представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CSF1R. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CSF1R представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл, токсин или связывающее CSF1R средство. В некоторых вариантах осуществления связывающее CSF1R средство представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

В вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, субъекту дополнительно вводили или будут вводить средство, которое подавляет поли(АДФ-рибоза)полимеразу (PARP). В вариантах осуществления средство, которое подавляет PARP, представляет собой малую молекулу, нуклеи-

новую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PARP, выбрано из группы, состоящей из: ABT-767, AZD 2461, BGB-290, BGP 15, CEP 8983, CEP 9722, DR 2313, E7016, E7449, флузопариба (SHR 3162), IMP 4297, INO1001, JPI289, JPI547, конъюгата моноклональное антитело B3-LysPE40, MP 124, нирапариба (ZEJULA) (МК-4827), NU 1025, NU 1064, NU 1076, NU1085, олапариба (AZD2281), ONO2231, PD 128763, R 503, R554, рукапариба (RUBRACA) (AG-014699, PF-01367338), SBP 101, SC 101914, симмипариба, талазопариба (BMN-673), велипариба (ABT-888), WW 46, 2-(4-(трифторметил)фенил)-7,8-дигидро-5Н-тиопирано[4,3-d]пиримидин-4-ола и их солей или производных.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет PARP, представляет собой нирапариб. В вариантах осуществления нирапариб вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 100 мг свободного основания нирапариба (например, фармацевтически приемлемую соль нирапариба, такую как моногидрат тозилата нирапариба, вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 100 мг свободного основания нирапариба). В вариантах осуществления нирапариб вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 200 мг свободного основания нирапариба (например, фармацевтически приемлемую соль нирапариба, такую как моногидрат тозилата нирапариба, вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 200 мг свободного основания нирапариба). В вариантах осуществления нирапариб вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 300 мг свободного основания нирапариба (например, фармацевтически приемлемую соль нирапариба, такую как моногидрат тозилата нирапариба, вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 300 мг свободного основания нирапариба).

В вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, субъекту (например, млекопитающему) вводили или будут вводить средство, которое подавляет TIM-3, и средство, которое подавляет PD-1, в результате чего млекопитающее получает все три средства.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, представляет собой BGB-A317, BI 754091, IB1308, INC5HR-1210, JNJ-63723283, JS-001, MEDI-0680, MGA-012, ниволумаб, PDR001, пембролизумаб, PF-06801591, REGN-2810, TSR-042, атезолизумаб, авелумаб, CX-072, дурвалумаб, FAZ053, LY3300054, миллимолекулу к PD-L1 или их производные.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, представляет собой MBG453, LY3321367, Sym023, TSR-022 или его производное.

В вариантах осуществления субъекту (например, млекопитающему) вводили или будут вводить средство, которое подавляет TIM-3, такое как TSR-022, и средство, которое подавляет PD-1, такое как TSR-042.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в дозе, составляющей от приблизительно 500 мг/пациент до приблизительно 1000 мг/пациент. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в дозе, составляющей приблизительно 500 мг/пациент. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1000 мг/пациент. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят пациенту один раз в три недели. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в течение множества циклов. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в течение 2, 3, 4, 5, 6 или больше циклов. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в течение трех, четырех или пяти циклов. В вариантах осуществления после третьего, четвертого или пятого цикла средство, которое подавляет PD-1, вводят в более высокой дозе один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в более высокой дозе один раз в 6 недель. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг/пациент. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в более высокой дозе, составляющей приблизительно 1000 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели на протяжении 3, 4 или 5 циклов с последующей второй дозой, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели на протяжении 3 циклов с последующей второй дозой, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели на протяжении 4 циклов с последующей второй дозой, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, вводят в первой дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели на протяжении 5 циклов с последующей второй дозой, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в 6 недель или больше. В вариантах осуществления вторую дозу, составляющую 1000 мг, вводят один раз в 6 недель.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, вводят в дозе, составляющей приблизительно 100-1500 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 100 мг; постоянной дозе приблизительно 200 мг; постоянной дозе приблизительно 300 мг; постоянной дозе приблизительно 400 мг; по-

стоянной дозе приблизительно 500 мг; постоянной дозе приблизительно 600 мг; постоянной дозе приблизительно 700 мг; постоянной дозе приблизительно 800 мг; постоянной дозе приблизительно 900 мг; постоянной дозе приблизительно 1000 мг; постоянной дозе приблизительно 1100 мг; постоянной дозе приблизительно 1200 мг; постоянной дозе приблизительно 1300 мг; постоянной дозе приблизительно 1400 мг или постоянной дозе приблизительно 1500 мг. В вариантах осуществления доза представляет собой постоянную дозу, составляющую не более приблизительно 1200 мг. В вариантах осуществления доза представляет собой постоянную дозу, составляющую не более приблизительно 900 мг. В вариантах осуществления доза представляет собой постоянную дозу, составляющую от приблизительно 100 до 500 мг. В вариантах осуществления доза представляет собой постоянную дозу, составляющую от приблизительно 1000 до 1500 мг. В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, вводят с интервалом введения один раз в неделю, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 5 недель или один раз в 6 недель. В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, вводят с интервалом введения один раз в 2 недели. В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, вводят с интервалом введения один раз в 3 недели. В вариантах осуществления средство, которое подавляет TIM-3, вводят на протяжении периода, составляющего по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 или 20 недель.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, представляет собой TSR-042 и вводится в количестве приблизительно 500 мг один раз в три недели; и средство, которое подавляет TIM-3, представляет собой TSR-022 и вводится в количестве не более приблизительно 1200 мг один раз в три недели. В вариантах осуществления TSR-022 вводят в количестве не более приблизительно 900 мг один раз в три недели.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет PD-1, и/или средство, которое подавляет TIM-3, вводят внутривенно.

В вариантах осуществления средство, которое подавляет LAG-3, средство, которое подавляет PD-1, и/или средство, которое подавляет TIM-3, вводят в пониженной дозе.

В вариантах осуществления подходящая доза средства на основе антитела к LAG-3 находится в диапазоне от приблизительно 240 мг/пациент до приблизительно 720 мг/пациент. В вариантах осуществления подходящая доза составляет приблизительно 240 мг/пациент, приблизительно 320 мг/пациент, приблизительно 400 мг/пациент, приблизительно 480 мг/пациент, приблизительно 560 мг/пациент, приблизительно 640 мг/пациент или приблизительно 720 мг/пациент. В вариантах осуществления подходящая доза составляет приблизительно 200 мг/пациент, приблизительно 300 мг/пациент, приблизительно 400 мг/пациент, приблизительно 500 мг/пациент, приблизительно 600 мг/пациент или приблизительно 700 мг/пациент. В других вариантах осуществления подходящая доза составляет приблизительно 250 мг/пациент, приблизительно 300 мг/пациент, приблизительно 350 мг/пациент, приблизительно 400 мг/пациент, приблизительно 450 мг/пациент, приблизительно 500 мг/пациент, приблизительно 550 мг/пациент, приблизительно 600 мг/пациент, приблизительно 650 мг/пациент или приблизительно 700 мг/пациент.

В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение средства, воздействующего на LAG-3, в дозе, составляющей от приблизительно 1 до приблизительно 5000 мг, приблизительно 1 мг, приблизительно 2 мг, приблизительно 2,5 мг, приблизительно 3 мг, приблизительно 4 мг, приблизительно 5 мг, приблизительно 6 мг, приблизительно 7 мг, приблизительно 8 мг, приблизительно 9 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 800 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1100 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 1300 мг, приблизительно 1400 мг, приблизительно 1500 мг, приблизительно 2000 мг, приблизительно 3000 мг, приблизительно 4000 мг или приблизительно 5000 мг. В вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение средства, воздействующего на LAG-3, в дозе, составляющей приблизительно 20 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 720 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 1500 мг, приблизительно 1800 мг, приблизительно 2100 мг, приблизительно 2200 мг или приблизительно 2500 мг.

В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение средства, воздействующего на LAG-3, в дозе, составляющей от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 100 мг/кг, приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 6 мг/кг, приблизительно 7 мг/кг, приблизительно 8 мг/кг, приблизительно 9 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 12 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 35 мг/кг, приблизительно 40 мг/кг, приблизительно 45 мг/кг, приблизительно 50 мг/кг, приблизительно 55 мг/кг, приблизительно 60 мг/кг, приблизительно 65 мг/кг, приблизительно 70 мг/кг, приблизительно 75 мг/кг, приблизительно 80 мг/кг, приблизительно 85 мг/кг, приблизительно 90 мг/кг, приблизительно 95 мг/кг или приблизительно

4280, MGD-013, GSK-2831781, FS-118, XmAb22841, INCAGN-2385, FS-18, ENUM-006, AVA-017, AM-0003, биспецифический аффамер Avacta PD-L1/LAG-3, антитело к LAG-3 iOnctura, антитело к LAG-3 Arcus или Sym022.

В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, описанный в настоящем документе; выделенную нуклеиновую кислоту, описанную в настоящем документе; вектор, описанный в настоящем документе; выделенную клетку, описанную в настоящем документе; любую композицию, описанную в настоящем документе; или средство на основе антитела, описанное в настоящем документе.

В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий:

CDR-H1, определенную под SEQ ID NO: 5, CDR-H2, определенную под SEQ ID NO: 6, CDR-H3, определенную под SEQ ID NO: 7; CDR-L1, определенную под SEQ ID NO: 8; CDR-L2, определенную под SEQ ID NO: 9; и CDR-L3, определенную под SEQ ID NO: 10.

В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий

аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3; и

аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4.

В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий

полипептидную последовательность тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 21; и

полипептидную последовательность легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 22.

В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой TSR-033.

В вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, субъектом является животное (например, млекопитающее). В вариантах осуществления субъектом является человек. В вариантах осуществления субъектом является отличное от человека млекопитающее (например, мыши, крысы, кролики или отличные от человека приматы). Следовательно, способы, описанные в настоящем документе, могут быть применимы как при лечении человека, так и в ветеринарной медицине.

В вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, субъекта (например, млекопитающее) ранее лечили с помощью одного или более различных методов лечения рака (например, с помощью одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии). В вариантах осуществления млекопитающее лечили с помощью одной, двух, трех, четырех или пяти линий предшествующей терапии. В вариантах осуществления линия предшествующей терапии представляет собой цитотоксическую терапию.

В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем документе, обеспечивает клиническую пользу для субъекта. В вариантах осуществления клиническая польза представляет собой полный ответ ("CR"), частичный ответ ("PR") или стабилизацию заболевания ("SD"). В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует по меньшей мере SD. В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует по меньшей мере PR. В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует CR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают SD. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают по меньшей мере PR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают CR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 20% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 20% пациентов достигают SD.

В некоторых вариантах осуществления клиническая польза (например, SD, PR и/или CR) определяется согласно Критериям оценки ответа при солидных опухолях (RECIST). В некоторых вариантах осуществления клиническая польза (например, SD, PR и/или CR) определяется согласно руководствам RECIST. В некоторых вариантах осуществления клиническая польза (например, SD, PR и/или CR) определяется согласно руководствам RECIST (версия 1.1). В некоторых вариантах осуществления клиническая польза (например, SD, PR и/или CR) определяется согласно связанным с иммунной системой руководствам RECIST (irRECIST). В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли может быть оценен либо с помощью irRECIST, либо с помощью RECIST версии 1.1. В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли может быть оценен как с помощью irRECIST, так и с помощью RECIST версии 1.1. При использовании в настоящем документе термин "руководства RECIST" могут относиться к RECIST 1.0, RECIST 1.1 или irRECIST взаимозаменяемо.

Также предусмотрены способы изготовления полипептидов, способных связывать LAG-3, путем

обеспечения экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, в культуре клеток-хозяев. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 (например, средство на основе полипептида) является выделенным. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела (например, средство на основе полипептида) может быть очищено до более 95 или 99% чистоты. В некоторых вариантах осуществления способ изготовления предусматривает композицию, содержащую полипептид, способный связывать LAG-3, путем объединения полипептида (например, выделенного полипептида) с фармацевтически приемлемым носителем и составления для введения субъекту. В некоторых вариантах осуществления стадия составления для введения включает составление композиции для парентеральной доставки.

Краткое описание графических материалов

Включенные в данный документ графические материалы, которые состоят из следующих фигур, предназначены исключительно для иллюстрации, а не для ограничения.

На фиг. 1 изображено схематическое представление, без соблюдения масштаба, передачи сигнала иммунной контрольной точки и истощения Т-клеток.

На фиг. 2 показан график, изображающий занятость рецепторов на РВМС человека иллюстративным средством на основе антитела к LAG-3.

На фиг. 3А показан график, изображающий конкурирование рецептор-лиганд для иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3. Иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 может блокировать связывание меченого DyLight 650 (DyL650) слитого белка LAG-3 с МНС класса II на клетках Дауди. Ромбы обозначают изотипический контроль, а кружки обозначают иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3. Фиг. 3В представляет собой схематическое изображение схемы анализа LAG-3 с репортерным геном. На фиг. 3С показано, что иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 TSR-033 является мощным антагонистом связывания LAG-3/МНС-II.

На фиг. 4 изображен анализ реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR). Инкубирование CD4+ Т-клеток с иллюстративным средством на основе антитела к LAG-3 дозозависимым образом обеспечивало увеличение продуцирования IL-2, и этот эффект усиливался с применением комбинации с иллюстративным средством на основе антитела к PD-1. Незакрашенные ромбы обозначают изотипический контроль, закрашенные кружки обозначают средство лечения с помощью иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3, незакрашенные квадраты обозначают иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 в комбинации с 2 нг/мл средства на основе антитела к PD-1, и незакрашенные шестиугольники обозначают иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 в комбинации с 20 нг/мл средства на основе антитела к PD-1.

На фиг. 5 показан график, изображающий продуцирование IL-2 из РВМС человека (от 5 доноров), стимулированных с помощью 100 нг/мл SEB в течение 3 дней. Иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 дозозависимым образом обеспечивало увеличение продуцирования IL-2, и этот эффект усиливался с применением комбинации с иллюстративным средством на основе антитела к PD-1. Маленькие кружки обозначают изотипический контроль, квадраты обозначают средство на основе антитела к LAG-3, большие кружки обозначают средство на основе антитела к PD-1, и треугольники обозначают иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 в комбинации со средством на основе антитела к PD-1.

На фиг. 6 показаны иллюстративные данные количественного определения в отношении опухолей исследования ксенотрансплантата у мышей, где мышам Balb/c имплантировали клетки лимфомы A20 и обрабатывали их изотипическим контролем, иллюстративным средством на основе антитела к PD-1, иллюстративным средством на основе антитела к LAG-3 и комбинацией средства на основе антитела к PD-1 и средства на основе антитела к LAG-3. У мышей, обработанных комбинацией средства на основе антитела к PD-1 и средства на основе антитела к LAG-3, рост опухоли сильно подавлен.

На фиг. 7 показаны иллюстративные данные активации Т-клеток селезенки исследования ксенотрансплантата у мышей, где мышам Balb/c имплантировали клетки лимфомы A20 и обрабатывали их изотипическим контролем, иллюстративным средством на основе антитела к PD-1, иллюстративным средством на основе антитела к LAG-3 и комбинацией средства на основе антитела к PD-1 и средства на основе антитела к LAG-3. У мышей, обработанных комбинацией средства на основе антитела к PD-1 и средства на основе антитела к LAG-3, наблюдалось значительное увеличение показателей как пролиферирующих Т-клеток, так и CD8 Т-клеток селезенки.

На фиг. 8 показаны иллюстративные данные количественного определения Т-клеток опухоли и селезенки у мышей с ксенотрансплантатом, которым повторно вводили клетки лимфомы A20, в случае необработанных мышей и мышей, обработанных иллюстративным средством на основе антитела к PD-1 и комбинацией средства на основе антитела к PD-1 и средства на основе антитела к LAG-3. На левой панели изображен график объема опухоли, а на правой панели изображено количественное определение Т-клеток (% CD4 Т-клеток и % CD8 Т-клеток, образцы соответствуют необработанным мышам, левый столбец; животным, обработанным антителом к PD-1, средний столбец; животным, обработанным антителом к PD-1 и антителом к LAG-3, правый столбец).

На фиг. 9А-9В изображены результаты иллюстративной модели истощения Т-клеток *in vitro*. (9А)

Целевая экспрессия PD-1 и LAG-3 в чувствительных (до стимуляции) клетках и истощенных (клетках после стимуляции). (9B) Количественное определение продуцирования IFN γ в истощенных клетках (после стимуляции), обработанных с помощью комбинации средства на основе антитела к PD-1 и средства на основе антитела к LAG-3 (черные столбцы) и изотипического контроля (серые столбцы).

На фиг. 10A показана схема введения доз антитела к LAG-3 в виде средства монотерапии и в виде средства комбинированной терапии с антителом к PD-1. На фиг. 10B представлена схема анализа степени занятости рецепторов (RO), который позволяет обнаруживать как связанный TSR-033, так и общее количество LAG-3 на поверхности Т-клеток в периферической крови пациента. На фиг. 10C показана степень занятости рецепторов (RO), измеренная с использованием Т-клеток пациента, где степень занятости рецепторов приближается к насыщению при дозе 240 мг (верхний набор данных) и к примерно 50% при дозе 80 мг (средний набор данных).

На фиг. 11 изображены двенадцать (12) внутрипочечных дисульфидных связей и четыре (4) межпочечные дисульфидные связи средства на основе антитела к LAG-3.

На фиг. 12A-12F показано, что заметная коэкспрессия PD-1, TIM-3 и LAG-3 выявлена на инфильтрирующих опухоль клетках - особенно на CD8+ Т-клетках - при немелкоклеточном раке легкого (NSCLC) (фиг. 12A), раке эндометрия (фиг. 12B), почечноклеточном раке (RCC) (фиг. 12C), раке шейки матки (фиг. 12D), раке желудка (фиг. 12E) и колоректальном раке (CRC) (фиг. 12F).

На фиг. 13A показан иммунный состав инфильтрирующих опухоль лейкоцитов, определенный методом проточной цитометрии с использованием образцов опухолей от пациентов с NSCLC и RCC. При чтении по часовой стрелке с положения 12' секторы графика показывают количество CD8+, Th, Treg, других CD3+/NKT, NK, моноцитов, DC, гранулоцитов и других CD45+ клеток. На фиг. 13B показаны исследования с использованием гранзима В в качестве функционального маркера для Т- и NK-клеток от пациентов с NSCLC и RCC. На фиг. 13C показан анализ TIL при первичном EGFR+ NSCLC и обнаружено, что PD-1⁺TIM-3⁺LAG-3⁺ цитотоксические Т-клетки были в высокой степени дисфункциональными, как оценено по статусу гранзима В: экспрессия двух или трех контрольных точек отмечает дисфункциональные CD8+ Т-клетки.

На фиг. 14A-14G изображены исследования на гуманизированных мышах NOG-EXL, которым сначала подкожно инокулировали немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) A549, а затем обрабатывали исследуемыми антителами, которые вводили интраперитонеально два раза в неделю в дозе 10 мг/кг. Объем опухоли (мм³) измеряли через 0-40 дней после обработки человеческим IgG4 изотипического контроля (фиг. 14A); антителом к PD-1 TSR-042 (фиг. 14B); антителом к TIM-3 TSR-022 (фиг. 14C); комбинацией TSR-042 и TSR-022 (фиг. 14D); антителом к LAG-3 TSR-033 (фиг. 14E); комбинацией TSR-042 и TSR-033 (фиг. 14F) и комбинацией TSR-042, TSR-022 и TSR-033 (фиг. 14G).

На фиг. 15A-15C изображены исследования опухолей NSCLC у животных, которые остались после прекращения исследования, описанного в примере 9. На фиг. 15A показана кратность изменения инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (CD45). На фиг. 15B показана кратность изменения регуляторных Т-клеток (Treg) при идентификации Treg как CD4+FOXP3+. На фиг. 15C показана кратность изменения пролиферирующих Treg, и Ki-67 использовали в качестве маркера для пролиферирующих клеток. Звездочку применяют для определения $p < 0,05$ в непарном Т-тесте Стьюдента при сравнении средства монотерапии на основе антитела к PD-1 с двойной или тройной комбинацией контрольных точек.

На фиг. 16A показано снижение показателя ассоциированных с опухолью макрофагов (TAM) после двойной или тройной блокады контрольных точек. На фиг. 16B показано увеличение соотношений M1/M2, наблюдаемых после двойной или тройной блокады контрольных точек. На фиг. 16C-D показано, что двойная блокада LAG-3 и PD-1 с применением TSR-033 и TSR-042 обеспечивает улучшение в отношении терапевтической эффективности и иммунной активации в гуманизированной мышшиной модели опухоли NSCLC. На фиг. 16C показано, что комбинация TSR-033 с TSR-042 обладает аддитивным эффектом (коэффициент взаимодействия лекарственных средств, CDI=1,001) в отношении ограничения роста опухоли у мышей HuNOG-EXL, инокулированных клетками A549. Мышей рандомизировали при объемах опухоли 80-120 мм³ с последующим введением указанных схем (Способы). В скобках указано подавление роста опухоли по окончании для каждой группы обработки. На фиг. 16D показано, что по сравнению со средством монотерапии на основе TSR-042 в комбинированной группе были повышены показатели инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, внутриопухолевых пролиферирующих Т-клеток, соотношение CD8/Treg и снижены показатели TAM (непарный Т-критерий Стьюдента). Данные представляют два независимых эксперимента (n=10 на группу обработки) и были нормализованы для кратного изменения относительно изотипического контроля для каждой группы обработки. На фиг. 16E-16F показано повышение показателей эффекторных Т-клеток памяти и продуцирования цитокинов *ex vivo* Т-клетками селезенки в комбинированной группе по сравнению с TSR-042 отдельно. На фиг. 16E показано повышение показателей эффекторных CD4 и CD8 Т-клеток памяти в комбинированной группе по сравнению с TSR-042 отдельно. На фиг. 16F показано значительное увеличение продуцирования IFN γ и TNF α в CD4 Т-клетках в комбинированной группе по сравнению с TSR-042 отдельно при стимуляции спленоцитов мыши *ex vivo*.

На фиг. 17A-17G изображены исследования на гуманизированных мышах NOG-EXL, которым сна-

чала инокулировали подкожно трижды негативный рак молочной железы (TNBC) MDA-MB436, а затем обрабатывали исследуемыми антителами, которые вводили интраперитонеально два раза в неделю в дозе 10 мг/кг. Объем опухоли (мм³) измеряли через 0-40 дней после обработки человеческим IgG4 изотипического контроля (фиг. 17A); антителом к PD-1 TSR-042 (фиг. 17B); антителом к TIM-3 TSR-022 (фиг. 17C); комбинацией TSR-042 и TSR-022 (фиг. 17D); антителом к LAG-3 TSR-033 (фиг. 17E); комбинацией TSR-042 и TSR-033 (фиг. 17F) и комбинацией TSR-042, TSR-022 и TSR-033 (фиг. 17G).

На фиг. 18A-18G изображены исследования на мышшиной модели сингенной опухоли, где мышам BALB/c сначала инокулировали подкожно клеточные линии рака молочной железы EMT-6, а затем обрабатывали исследуемыми антителами, которые вводили интраперитонеально два раза в неделю в дозе 10 мг/кг.

Объем опухоли (мм³) измеряли через 0-20 дней после обработки человеческим IgG4 изотипического контроля (фиг. 18A); антителом к PD-1 TSR-042 (фиг. 18B); антителом к TIM-3 TSR-022 (фиг. 18C); комбинацией антитела к PD-1 TSR-042 и антитела к TIM-3 TSR-022 (фиг. 18D); антителом к LAG-3 TSR-033 (фиг. 18E); комбинацией антитела к PD-1 TSR-042 и антитела к LAG-3 TSR-033 (фиг. 18F) и комбинацией антитела к PD-1 TSR-042, антитела к TIM-3 TSR-022 и антитела к LAG-3 TSR-033 (фиг. 18G).

Фиг. 19 относится к схеме, разработанной для выявления видов рака, в отношении которых может быть полезно средство терапии на основе тройной блокады, и изображает краткое описание применяемых отличительных признаков.

Некоторые определения

Если не указано иное, научные и технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, должны иметь значения, которые обычно понимаются специалистами в данной области техники. Кроме того, если иное не требуется по контексту, термины единственного числа включают множественное число, а термины множественного числа включают единственное число. В целом, цифровые или словесные обозначения и методики, применяемые в связи с клеточной и тканевой культурой, молекулярной биологией и химией и гибридизацией белка и олиго- или полинуклеотидов, описанные в настоящем документе, являются такими, которые хорошо известны и обычно используются в данной области техники. Стандартные методики применяются для рекомбинантной ДНК, синтеза олигонуклеотидов, а также для культивирования и трансформации тканей (например, электропорации, липофекции). Ферментативные реакции и методики очистки выполняют в соответствии со спецификациями производителя, как обычно осуществляется в данной области техники или как описано в настоящем документе. Вышеуказанные методики и процедуры в целом выполняются в соответствии с обычными способами, хорошо известными в данной области техники, и как описано в различных общих и более конкретных ссылках, которые цитируются и обсуждаются в настоящем описании. См., например, Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), которая включена в настоящий документ посредством ссылки. Цифровые или словесные обозначения, используемые в связи с описанными в настоящем документе лабораторными процедурами и методами аналитической химии, синтетической органической химии, а также медицинской и фармацевтической химии, хорошо известны и широко используются в данной области техники. Стандартные методики применяются для химического синтеза, химического анализа, фармацевтического получения, составления и доставки и лечения пациентов.

Приблизительно. Термин "приблизительно" при использовании в настоящем документе в отношении значения относится к значению, которое является сходным в контексте упомянутого значения. Как правило, специалистам в данной области, знакомым с контекстом, будет понятно, что в этом контексте термин "приблизительно" охватывает соответствующую степень отклонения. Например, в некоторых вариантах осуществления термин "приблизительно" может охватывать диапазон значений, которые находятся в пределах 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1% или меньше от указанного значения.

Введение. Используемый в настоящем документе термин "введение", как правило, относится к введению композиции субъекту или в систему для достижения доставки средства, которое представляет собой композицию или содержится в ней. Рядовым специалистам в данной области известно о множестве путей, которые могут в соответствующих обстоятельствах применяться для введения субъекту, например человеку. Примеры путей введения включают в себя парентеральное, например внутривенное, внутрикожное, подкожное, пероральное (например, ингаляцией), чрескожное (т.е. местное), чресслизистое и ректальное введение. Например, в некоторых вариантах осуществления введение может быть глазным, пероральным, парентеральным, местным и т.д. В вариантах осуществления введение является парентеральным (например, внутривенным введением). В вариантах осуществления внутривенное введение является внутривенной инфузией. В некоторых конкретных вариантах осуществления введение может быть бронхиальным (например, путем бронхиальной инстилляцией), трансбуккальным, кожным (которое может представлять собой или включать, например, одно или более из местного введения в дерму, внутрикожное, интродермальное, трансдермальное и т.д.), энтеральным, внутриартериальным, внутрикожным, внутрижелудочным, интрамедуллярным, внутримышечным, интраназальным, интраперитонеальным, интраокулярным, внутривенным, внутрижелудочковым, внутрь конкретного органа (на-

пример, внутривенным), мукозальным, назальным, пероральным, ректальным, подкожным, подъязычным, местным, трахеальным (например, путем интратрахеальной инстилляцией), вагинальным, витреальным и т.д. В некоторых вариантах осуществления введение может предусматривать только однократную дозу. В некоторых вариантах осуществления введение может предусматривать применение фиксированного числа доз. В некоторых вариантах осуществления введение может предусматривать введение доз, которое представляет собой прерывистое (например, множество доз, разделенных во времени) и/или периодическое (например, отдельные дозы, разделенные одинаковым периодом времени) введение доз. В некоторых вариантах осуществления введение может предусматривать непрерывное введение доз (например, перфузию) в течение по меньшей мере выбранного периода времени.

Растворы или суспензии, используемые для парентерального, внутрикожного или подкожного применения, могут включать в себя следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекции, солевой раствор, нелетучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; противобактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA); буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты, и средства для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Значение pH можно регулировать с помощью кислот или оснований, таких как хлористоводородная кислота или гидроксид натрия. Парентеральный препарат может быть заключен в ампулы, одноразовые шприцы или флаконы с несколькими дозами, сделанные из стекла или пластика.

Для введения с помощью ингаляции соединения доставляют в форме аэрозольного спрея из находящегося под давлением контейнера или дозатора, который содержит подходящий пропеллент, например, газ, такой как диоксид углерода, или небулайзера.

Системное введение также можно осуществлять чресслизистыми или чрескожными средствами. Для чресслизистого или чрескожного введения в составе используют обеспечивающие проникновение средства, подходящие для проникновения через барьер. Такие обеспечивающие проникновение средства обычно известны в уровне техники и включают в себя, например, средства для чресслизистого введения, поверхностно-активные вещества, желчные кислоты и производные фузидовой кислоты. Чресслизистое введение может быть осуществлено путем применения назальных спреев или суппозитория. Для чрескожного введения активные соединения составляют в мази, бальзамы, гели или кремы, как правило, известные в уровне техники.

Соединения также могут быть получены в форме суппозитория (например, с помощью традиционных основ для суппозитория, таких как масло какао и другие глицериды) или удерживающих клизм для ректальной доставки.

Аффинность. Как известно в уровне техники, "аффинность" является мерой прочности, с которой конкретный лиганд связывается со своим партнером. Значения аффинности могут быть измерены различными путями. В некоторых вариантах осуществления аффинность измеряют с помощью количественного анализа. В некоторых таких вариантах осуществления концентрация партнера по связыванию может быть зафиксирована так, чтобы она превышала концентрацию лиганда с целью имитировать физиологические условия. В качестве альтернативы или в дополнение, в некоторых вариантах осуществления концентрация партнера по связыванию и/или концентрация лиганда может варьироваться. В некоторых таких вариантах осуществления аффинность можно сравнивать с эталоном в сравнимых условиях (например, концентрации).

Антитело. Используемый в настоящем документе термин "антитело" относится к полипептиду, который содержит элементы канонической последовательности иммуноглобулина, достаточные для обеспечения специфического связывания с конкретным целевым антигеном. Как известно в уровне техники, интактные антитела, продуцируемые в природе, представляют собой тетрамерные средства размером приблизительно 150 кДа, состоящие из двух идентичных полипептидов тяжелых цепей (приблизительно 50 кДа каждый) и двух идентичных полипептидов легких цепей (приблизительно 25 кДа каждый), которые связаны друг с другом с образованием того, что обычно называют "Y-образной" структурой. Каждая тяжелая цепь состоит из по меньшей мере четырех доменов (каждый длиной приблизительно 110 аминокислот) - аминоконцевого вариабельного (VH) домена (расположенного на концах Y-структуры), за которым следуют три константных домена: CH1, CH2 и карбоксиконцевой CH3 (расположенный у основания стебля Y). Короткая область, известная как "переключатель", соединяет вариабельные и константные области тяжелых цепей. "Шарнир" соединяет домены CH2 и CH3 с остальной частью антитела. Две дисульфидные связи в этой шарнирной области соединяют два полипептида тяжелых цепей друг с другом в интактном антителе. Каждая легкая цепь состоит из двух доменов - аминоконцевого вариабельного (VL) домена, за которым следует карбоксиконцевой константный (CL) домен, отделенных друг от друга еще одним "переключателем". Специалисты в данной области хорошо знакомы со структурой и элементами последовательности антител, распознают "вариабельные" и "константные" области в предоставленных последовательностях и понимают, что может существовать некоторая гибкость в определении "границы" между такими доменами, так что различные представления одной и той же последовательности цепи антитела может, например, указывать на такую границу в месте, которое смещено на один или более ос-

татков по отношению другого представления той же последовательности цепи антитела. Тетрамеры интактного антитела состоят из двух димеров тяжелая цепь-легкая цепь, в которых тяжелая и легкая цепи связаны друг с другом одной дисульфидной связью; две другие дисульфидные связи соединяют шарнирные области тяжелых цепей друг с другом, за счет чего димеры соединяются друг с другом и образуется тетрамер. Продуцируемые в природе антитела также являются гликозилированными, как правило, по СН2-домену. Каждый домен в природном антителе имеет структуру, характеризующуюся "укладкой иммуноглобулина", образованной из двух бета-листов (например, 3-, 4- или 5-нитевых листов), упакованных друг против друга в сжатую антипараллельную бета-бочку. Каждый вариабельный домен содержит три гипервариабельные петли, известные как "определяющие комплементарность области" (CDR1, CDR2 и CDR3), и четыре в некоторой степени инвариантные "каркасные" области (FR1, FR2, FR3 и FR4). Когда природные антитела сворачиваются, FR-области образуют бета-листы, которые обеспечивают структурный каркас для доменов, и области петли CDR как из тяжелой, так и из легкой цепи объединяются в трехмерном пространстве, в результате чего они создают единый гипервариабельный антигенсвязывающий сайт, расположенный на вершине Y-структуры. Fc-область встречающихся в природе антител связывается с элементами системы комплемента, а также с рецепторами на эффекторных клетках, включающих, например, эффекторные клетки, которые опосредуют цитотоксичность. Как известно в уровне техники, аффинность и/или другие характеристики связывания Fc-областей в отношении Fc-рецепторов могут модулироваться посредством гликозилирования или другой модификации. В некоторых вариантах осуществления антитела, продуцируемые и/или используемые в соответствии с настоящим изобретением, включают гликозилированные Fc-домены, в том числе Fc-домены с модификацией или конструированием с помощью такого гликозилирования. Для целей настоящего изобретения в некоторых вариантах осуществления любой полипептид или комплекс полипептидов, который содержит достаточные последовательности доменов иммуноглобулинов, которые находятся в природных антителах, могут упоминаться и/или применяться как "антитело", независимо от того, получен ли такой полипептид естественным путем (например, продуцирован организмом, реагирующим на антиген) или получен с помощью рекомбинантной инженерии, химического синтеза или другой искусственной системы или методики. В некоторых вариантах осуществления антитело является поликлональным; в некоторых вариантах осуществления антитело является моноклональным. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет последовательности константной области, которые характерны для антител мыши, кролика, примата или человека. В некоторых вариантах осуществления элементы последовательности антитела являются гуманизированными, приматизированными, химерными и т.д., как известно из уровня техники. Более того, термин "антитело", используемый в настоящем документе, может относиться в соответствующих вариантах осуществления (если не указано иное или не ясно из контекста) к любой из известных или разработанных в уровне техники конструкций или форматов для использования структурных и функциональных особенностей антитела в альтернативном представлении. Например, в вариантах осуществления средство на основе антитела, применяемое в соответствии с настоящим изобретением, имеет формат, выбранный без ограничения из интактных антител IgA, IgG, IgE или IgM; би- или мультиспецифических антител (например, Zybody® и т.д.); фрагментов антител, таких как Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fd'-фрагменты, Fd-фрагменты, и выделенных CDR или их групп; одноцепочечных Fv; слияний полипептид-Fc; однодоменных антител (например, акулиных однодоменных антител, таких как IgNAR или их фрагменты); верблюжьих антител; маскированных антител (например, Probody®); малых модульных иммунофармацевтических препаратов ("SMIP™"); одноцепочечных или tandemных диател (TandAb®); VHH; Anticalin®; минител Nanobody®; BiTE®; белков с анкириновым повтором или DARPIN®; Avimer®; DART; TCR-подобных антител; Adnectin®; Affilin®; Trans-body®; Affibody®; TrimerX®; MicroProtein; Fynomer®, Centygin® и KALBITOR®. В некоторых вариантах осуществления у антитела может отсутствовать ковалентная модификация (например, присоединение гликана), которую оно имело бы, если бы было получено естественным путем. В некоторых вариантах осуществления антитело может содержать ковалентную модификацию (например, присоединение гликана, полезную нагрузку (например, выявляемый фрагмент, терапевтический фрагмент, каталитический фрагмент и т.д.) или другую боковую группу (например, полиэтиленгликоль и т.д.)).

Антитела включают фрагменты антител. Антитела также включают без ограничения библиотеки экспрессии поликлональных, моноклональных, химерных dAb (доменных антител), одной цепи, F_{ab}, F_{ab}', F_{(ab)2}-фрагментов, scFv и F_{ab}. Антитело может быть целым антителом, или иммуноглобулином, или фрагментом антитела.

Как подробно описано выше, целые антитела состоят из двух пар "легкой цепи" (LC) и "тяжелой цепи" (HC) (такие пары легкая цепь (LC)/тяжелая цепь в настоящем документе сокращенно обозначены как LC/HC). Легкие цепи и тяжелые цепи таких антител представляют собой полипептиды, состоящие из нескольких доменов. В целом антителе каждая тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (сокращенно обозначенную в настоящем документе как HCVR или VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит константные домены тяжелой цепи CH1, CH2 и CH3 (классы антител IgA, IgD и IgG) и необязательно константный домен тяжелой цепи CH4 (классы

антител IgE и IgM). Каждая легкая цепь содержит переменный домен легкой цепи VL и константный домен легкой цепи CL. Переменные домены VH и VL можно дополнительно подразделить на области гиперпеременности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), чередующиеся с более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (Janeway, C.A., Jr., et al., (2001). *Immunobiology*, 5th ed., Garland Publishing; и Woof, J., Burton, D., *Nat. Rev. Immunol.* 4 (2004) 89-99). Две пары тяжелой цепи и легкой цепи (HC/LC) способны специфически связываться с одним и тем же антигеном. Таким образом, указанное целое антитело представляет собой бивалентное моноспецифическое антитело. Такие "антитела" включают, например, мышинные антитела, человеческие антитела, химерные антитела, гуманизированные антитела и генетически сконструированные антитела (вариантные или мутантные антитела), при условии, что их характерные свойства сохраняются. В некоторых вариантах осуществления антитела или связывающего средства представляют собой гуманизированные антитела, особенно в виде рекомбинантных человеческих или гуманизированных антител.

В некоторых вариантах осуществления антитело или связывающее средство может быть "симметричным". Термин "симметричный" означает, что антитело или связывающее средство имеют Fv-области одного типа (например, антитело имеет две Fab-области). В некоторых вариантах осуществления антитело или связывающее средство может быть "асимметричным". Термин "асимметричный" означает, что антитело или связывающее средство имеет по меньшей мере два разных типа Fv-областей (например, антитело имеет области Fab и scFv, области Fab и scFv2 или области Fab-VHH). Различные структуры асимметричных антител или связывающих средств известны в данной области (Brinkman and Kontermann et al. 2017 *Mabs* (9)(2):182-212).

Средство на основе антитела: Используемый в данном документе термин "средство на основе антитела" относится к средству, которое специфически связывается с конкретным антигеном. В некоторых вариантах осуществления данный термин охватывает любой полипептид или полипептидный комплекс, который содержит структурные элементы иммуноглобулинов, достаточные для обеспечения специфического связывания. Иллюстративные средства на основе антитела предусматривают без ограничения моноклональные антитела или поликлональные антитела. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела может содержать одну или более последовательностей константной области, которые характерны для антител мыши, кролика, примата или человека. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела может содержать один или более элементов последовательности, являющихся гуманизированными, приматизированными, химерными и т.д., как известно из уровня техники. Во многих вариантах осуществления термин "средство на основе антитела" используется для обозначения одной или более известных из уровня техники или разработанных конструкций или форматов для применения структурных и функциональных признаков антитела в альтернативном представлении. Например, согласно вариантам осуществления средство на основе антитела, применяемое в соответствии с настоящим изобретением, имеет формат, выбранный без ограничения из интактных антител IgA, IgG, IgE или IgM; би- или мультиспецифических антител (например, Zybodies® и т.п.); фрагментов антитела, таких как Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fd'-фрагменты, Fd-фрагменты, и выделенных CDR или их наборов; одноцепочечных Fv; слияний полипептид-Fc; однодоменных антител (например, однодоменных антител акулы, таких как IgNAR или их фрагментов); верблюжьих антител; маскированных антител (например, Probody®); малых модульных иммунофармацевтических препаратов ("SMIP™"); одноцепочечных или тандемных диател (TandAb®); VHH; Anticalin®; минител Nanobody®; BiTE®; белков с анкириновым повтором или DARPIN®; Avimer®; DART; TCR-подобных антител; Adnectin®; Affilin®; Trans-body®; Affibody®; TrimerX®; MicroProtein; Fynomer®, Centyrin® и KALBITOR®. В некоторых вариантах осуществления у антитела может отсутствовать ковалентная модификация (например, присоединение гликана), которую оно имело бы, если бы было получено естественным путем. В некоторых вариантах осуществления антитело может содержать ковалентную модификацию (например, присоединение гликана, полезный груз [например, выявляемый фрагмент, терапевтический фрагмент, каталитический фрагмент и т.д.] или другую боковую группу [например, полиэтиленгликоль и т.д.]). Во многих вариантах осуществления средство на основе антитела представляет собой или содержит полипептид, аминокислотная последовательность которого содержит один или более структурных элементов, известных специалистам в данной области, таких как определяющая комплементарность область (CDR); в некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела представляет собой или содержит полипептид, аминокислотная последовательность которого содержит по меньшей мере одну CDR (например, по меньшей мере одну CDR тяжелой цепи и/или по меньшей мере одну CDR легкой цепи), которая по существу идентична таковой, встречающейся в эталонном антителе. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR по существу идентична эталонной CDR, в том смысле, что она либо идентична по последовательности, либо содержит от 1 до 5 аминокислотных замен по сравнению с эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR по существу идентична эталонной CDR, в том смысле, что она демонстрирует по меньшей мере 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94,

95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичность последовательности с эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR по существу идентична эталонной CDR, в том смысле, что она демонстрирует по меньшей мере 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичность последовательности с эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR по существу идентична эталонной CDR, в том смысле, что она демонстрирует по меньшей мере 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичность последовательности с эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR по существу идентична эталонной CDR, в том смысле, что по меньшей мере одна аминокислота в пределах включенной CDR подвергнута делеции, добавлена или заменена по сравнению с эталонной CDR, но включенная CDR имеет аминокислотную последовательность, которая в остальном идентична таковой у эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR по существу идентична эталонной CDR, в том смысле, что 1-5 аминокислот в пределах включенной CDR подвергнуты делеции, добавлены или заменены по сравнению с эталонной CDR, но включенная CDR имеет аминокислотную последовательность, которая в остальном идентична эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR по существу идентична эталонной CDR, в том смысле, что по меньшей мере одна аминокислота в пределах включенной CDR заменена по сравнению с эталонной CDR, но включенная CDR имеет аминокислотную последовательность, которая в остальном идентична таковой у эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR по существу идентична эталонной CDR, в том смысле, что 1-5 аминокислот в пределах включенной CDR подвергнуты делеции, добавлены или заменены по сравнению с эталонной CDR, но включенная CDR имеет аминокислотную последовательность, которая в остальном идентична эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела представляет собой или содержит полипептид, аминокислотная последовательность которого содержит структурные элементы, известные специалистам в данной области как переменный домен иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела представляет собой полипептидный белок со связывающим доменом, который гомологичен или в значительной степени гомологичен связывающему домену иммуноглобулина.

Когда "гомологичный" используется в отношении белков или пептидов, считается, что положения остатков, которые не являются идентичными, часто отличаются консервативными аминокислотными заменами. "Консервативная аминокислотная замена" представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток замещен другим аминокислотным остатком, имеющим боковую цепь (R-группу) с аналогичными химическими свойствами (например, зарядом или гидрофобностью). В общем, консервативная аминокислотная замена по существу не будет изменять функциональные свойства белка. В случаях, если две или более аминокислотных последовательностей отличаются друг от друга консервативными заменами, процентная идентичность последовательности или степень гомологии могут быть увеличены с целью коррекции в отношении консервативной природы замены. Средства для осуществления этой коррекции хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Pearson, 1994, *Methods Mol. Biol.* 24:307-31 и 25:365-89.

Например, в некоторых случаях каждая из следующих шести групп содержит аминокислоты, которые являются консервативными заменами друг для друга: 1) серин, треонин; 2) аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота; 3) аспарагин, глутамин; 4) аргинин, лизин; 5) изолейцин, лейцин, метионин, аланин, валин и 6) фенилаланин, тирозин, триптофан. Специалистам в данной области техники известны другие подходящие замены в дополнение к неограничивающим примерам, описанным в настоящем документе.

Связывание. Следует учитывать, что термин "связывание", используемый в настоящем документе, как правило, относится к нековалентной ассоциации между двумя или более частицами или в них. "Непосредственное" связывание предусматривает физический контакт между частицами или фрагментами; опосредованное связывание предусматривает физическое взаимодействие посредством физического контакта с одной или более промежуточных частиц. Связывание между двумя или более частицами обычно может оцениваться в любом из ряда контекстов, в том числе в тех случаях, когда взаимодействующие частицы или фрагменты изучаются изолированно или в контексте более сложных систем (например, при ковалентной или иной ассоциации с частицей-носителем и/или в биологической системе или клетке). В некоторых вариантах осуществления "связывание" относится к нековалентным взаимодействиям того типа, которые происходят между молекулой иммуноглобулина и антигеном, в отношении которого иммуноглобулин является специфическим. Сила или аффинность иммунологических связывающих взаимодействий могут быть выражены через константу диссоциации (K_d) взаимодействия, где меньшая K_d представляет большую аффинность. Иммунологические свойства связывания выбранных полипептидов могут быть определены количественно с применением способов, хорошо известных в уровне техники. Один такой способ включает измерение скоростей образования и диссоциации комплекса антигенсвязывающий сайт/антиген, при этом данные скорости зависят от концентраций партнеров комплекса, аффинности взаимодействия и геометрических параметров, которые в равной степени влияют на скорость в обоих направлениях. Таким образом, и "константа скорости ассоциации" (K_{on}), и "константа скорости диссоциации" (K_{off}) могут быть определены путем расчета концентраций и фактических скоростей ассоциации и диссоциации. (См. *Nature* 361:186-87 (1993)). Отношение K_{off}/K_{on} позволяет аннулировать все

параметры, не связанные с аффинностью, и равняется константе диссоциации K_d . (См. в общем, Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473).

Связывающее средство. Как правило, термин "связывающее средство" используется в настоящем документе в отношении любой частицы, которая связывается с представляющей интерес мишенью, как описано в настоящем документе. Во многих вариантах осуществления представляющим интерес связывающим средством является средство, которое специфически связывается со своей мишенью, в том аспекте, что оно отличает свою мишень от других потенциальных партнеров по связыванию в конкретном контексте взаимодействия. Как правило, связывающее средство может представлять собой частицу из любого химического класса (например, полимер, неполимер малую молекулу, полипептид, углевод, липид, нуклеиновую кислоту и т.д.) или содержать ее. В некоторых вариантах осуществления связывающее средство представляет собой одну химическую частицу. В некоторых вариантах осуществления связывающее средство представляет собой комплекс из двух или более отдельных химических частиц, связанных друг с другом в соответствующих условиях посредством нековалентных взаимодействий. Например, специалистам в данной области будет понятно, что в некоторых вариантах осуществления связывающее средство может содержать "общий" связывающий фрагмент (например, один из биотина/авидина/стрептавидина и/или класс-специфическое антитело) и "специфический" связывающий фрагмент (например, антитело или аптамеры с определенной молекулярной мишенью), который связан с партнером общего связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления такой подход может позволить модульную сборку множества связывающих средств посредством связывания разных специфических связывающих фрагментов с одним и тем же партнером общего связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат полипептиды (в том числе, например, антитела или фрагменты антител). В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат малые молекулы. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой аптамеры. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой полимеры; в некоторых вариантах осуществления связывающие средства не являются полимерами. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства являются неполимерными в том отношении, что они не имеют полимерных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат углеводы. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат лектины. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат пептидомиметики. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат каркасные белки. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат мимеотопы. В некоторых вариантах осуществления связывающие средства представляют собой или содержат нуклеиновые кислоты, такие как ДНК или РНК. В вариантах осуществления связывающее средство представляет собой выделенный полипептид, описанный в настоящем документе. В вариантах осуществления связывающим средством является антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления связывающее средство представляет собой антитело.

Рак. Термины "рак", "злокачественность", "новообразование", "опухоль" и "карцинома" используются в настоящем документе в отношении клеток, которые демонстрируют относительно аномальный, неконтролируемый и/или автономный рост, в результате чего они демонстрируют фенотип aberrантного роста, характеризующийся существенной потерей контроля клеточной пролиферации. В некоторых вариантах осуществления опухоль может представлять собой или содержать клетки, которые являются предраковыми (например, доброкачественными), злокачественными, предметастатическими, метастатическими и/или неметастатическими. В настоящем изобретении идентифицированы определенные виды рака, в отношении которых его идеи могут быть особенно подходящими. В некоторых вариантах осуществления соответствующий рак может характеризоваться как солидная опухоль. В некоторых вариантах осуществления соответствующий рак может характеризоваться как гематологическая опухоль. В вариантах осуществления рак представляет собой аденокарциному, аденокарциному легкого, острый миелоидный лейкоз ("AML"), острый лимфобластный лейкоз ("ALL"), аденокортикальную карциному, рак ануса (например, плоскоклеточная карцинома ануса), рак аппендикса, В-клеточный лейкоз, В-клеточную лимфому, рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), рак фаллопиевой(ых) трубы(труб), рак яичка, церебральный рак, рак шейки матки (например, плоскоклеточный рак шейки матки), хориокарциному, хронический миелогенный лейкоз, опухоль CNS, рак толстой кишки или колоректальный рак (например, аденокарциному толстой кишки), диффузную глиому ствола головного мозга (DIPG), диффузную В-крупноклеточную лимфому ("DLBCL"), эмбриональную рабдомиосаркому (ERMS), рак эндометрия, эпителиальный рак, рак пищевода (например, плоскоклеточный рак пищевода), саркому Юинга, рак глаза (например, увеальную меланому), фолликулярную лимфому ("FL"), рак желчного пузыря, рак желудка, рак желудочно-кишечного тракта, глиому, рак головы и шеи (например, плоскоклеточный рак головы и шеи (SCHNC)), гематологический рак, печеночноклеточный рак, лимфому Ходжкина (HL)/первичную медиастинальную

В-клеточную лимфому, рак почки, светлоклеточный рак почки, рак гортани, лейкоз, рак печени, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого или плоскоклеточный рак легкого), лимфому, меланому, карциному из клеток Меркеля, мезотелиому, моноцитарный лейкоз, множественную миелому, миелому, нейробластическую опухоль CNS (например, нейробластому (NB)), неходжкинскую лимфому (NHL), рак ротовой полости, остеосаркому, рак яичника, карциному яичника, рак поджелудочной железы, рак брюшины, первичный рак брюшины, рак предстательной железы, рецидивную или рефрактерную классическую лимфому Ходжкина (сHL), рак почки (например, почечноклеточный рак), рак прямой кишки, рак слюнной железы (например, опухоль слюнной железы), саркому, рак кожи, рак тонкой кишки, рак желудка, плоскоклеточный рак, плоскоклеточный рак полового члена, рак желудка, Т-клеточную лейкемию, Т-клеточную лимфому, рак тимуса, тимому, рак щитовидной железы, увеальную меланому, уротелиальную карциному, рак матки (например, рак эндометрия матки или саркому матки), рак влагалища (например, плоскоклеточный рак влагалища), рак вульвы (например, плоскоклеточный рак вульвы) или опухоль Вильмса.

Носитель. При использовании в настоящем документе относится к разбавителю, адьюванту, вспомогательному средству или среде-носителю, с которыми вводят композицию. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления носители могут включать стерильные жидкости, такие как, например, вода и масла, в том числе масла из нефти, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как, например, арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т. п. В некоторых вариантах осуществления носители представляют собой или включают один или более твердых компонентов. В некоторых вариантах осуществления носителем может быть растворитель или дисперсионная среда, содержащая, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т.п.), и их подходящие смеси. Надлежащая текучесть может поддерживаться, например, путем применения покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов может быть достигнуто с помощью различных противобактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п. В некоторых случаях может быть желательным включать в композицию изотонические средства, например, сахара, многоатомные спирты, такие как маннит, сорбит, хлорид натрия. Пролонгированная абсорбция инъектируемых композиций может быть достигнута с помощью включения в композицию средства, которое обеспечивает задержку абсорбции, например, моностеарата алюминия и желатина.

CDR. Используемый в настоящем документе термин "CDR" относится к определяющей комплементарности области в пределах варибельной области антитела. В каждой из варибельных областей тяжелой цепи и легкой цепи имеется три CDR, которые обозначены как CDR1, CDR2 и CDR3 для каждой из варибельных областей. "Набор из CDR" или "набор CDR" относится к группе из трех или шести CDR, которые встречаются либо в одной варибельной области, способной связывать антиген, либо в CDR родственных варибельных областей тяжелой и легкой цепи, способных связывать антиген. Границы CDR определены по-разному в зависимости от системы, некоторые из которых известны в данной области (например, Kabat, Chothia и т.д.).

Комбинированное средство терапии. Используемый в данном документе термин "комбинированное средство терапии" относится к клиническому вмешательству, при котором субъект одновременно подвергается воздействию двух или более терапевтических схем (например, двух или более терапевтических средств). В некоторых вариантах осуществления две или более терапевтических схем могут вводиться одновременно. В некоторых вариантах осуществления две или более терапевтических схем могут вводиться последовательно (например, первую схему вводят до введения каких-либо доз из второй схемы). В некоторых вариантах осуществления две или более терапевтических схем вводят с перекрытием схем введения дозы. В некоторых вариантах осуществления введение комбинированного средства терапии может предусматривать введение одного или более терапевтических средств или методов субъекту, получающему другое(другие) средство(средства) или метод. В некоторых вариантах осуществления комбинированное средство терапии не обязательно требует, чтобы отдельные средства вводились вместе в одной композиции (или даже обязательно в одно и то же время). В некоторых вариантах осуществления два или более терапевтических средств или методов комбинированной терапии вводят субъекту по отдельности, например в отдельных композициях, посредством отдельных путей введения {например, одно средство перорально, а другое средство внутривенно} и/или в разные моменты времени. В некоторых вариантах осуществления два или более терапевтических средств могут быть введены вместе в комбинированной композиции или даже в комбинированном соединении {например, как часть одного химического комплекса или ковалентной частицы}, посредством одного и того же пути введения и/или в одно и то же время.

Соединение и средство. Термины "соединение" и "средство" используются в настоящем документе взаимозаменяемо. Они относятся к любой встречающейся в природе или не встречающейся в природе (например, синтетической или рекомбинантной) молекуле, такой как биологическая макромолекула (например, нуклеиновая кислота, полипептид или белок), органическая или неорганическая молекула, или экстракту, полученному из биологических материалов, таких как бактерии, растения, грибы или клетки

или ткани животных (например, млекопитающих, включая человека). Соединение может представлять собой одну молекулу или смесь или комплекс из по меньшей мере двух молекул.

Сопоставимый. Используемый в настоящем документе термин "сопоставимый" относится к описанию двух (или более) совокупностей условий или обстоятельств, которые достаточно похожи друг на друга, чтобы можно было сравнивать полученные результаты или наблюдаемые явления. В некоторых вариантах осуществления сопоставимые совокупности условий или обстоятельств характеризуются множеством по существу идентичных признаков и одним или небольшим числом отличающихся признаков. Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что совокупности условий сопоставимы друг с другом, если они характеризуются достаточным числом и типом по существу идентичных признаков, чтобы сделать обоснованный вывод о том, что различия в полученных результатах или явлениях, наблюдаемые под влиянием различных совокупностей условий или обстоятельств, вызваны различием в этих отличительных признаках или указывают на него.

Контроль. Используемый в настоящем документе термин "контроль" имеет принятое в данной области значение, подразумевающее стандарт, относительно которого сравнивают результаты. Как правило, контроль используют для повышения чистоты в экспериментах путем выделения переменных, чтобы сделать вывод о таких переменных. В некоторых вариантах осуществления контроль представляет собой реакцию или анализ, который проводят одновременно с исследуемой реакцией или анализом для получения объекта сравнения. В одном эксперименте применяют "объект исследования" (т.е. исследуемую переменную). Во втором эксперименте, "контрольном", исследуемую переменную не применяют. В некоторых вариантах осуществления контроль представляет собой исторический контроль (т.е. исследование или анализ, выполненные ранее, или количество или результат, которые ранее известны). В некоторых вариантах осуществления контроль представляет собой или содержит напечатанную или иным образом сохраненную запись. Контроль может быть положительным контролем или отрицательным контролем.

Эпитоп. Используемый в настоящем документе термин "эпитоп" включает любой фрагмент, который специфически распознается связывающим компонентом иммуноглобулина (например, антитела или рецептора). В некоторых вариантах осуществления эпитоп состоит из множества химических атомов или групп на антигене. В некоторых вариантах осуществления такие химические атомы или группы находятся на поверхности, когда антиген принимает соответствующую трехмерную конформацию. В некоторых вариантах осуществления такие химические атомы или группы физически находятся близко друг к другу в пространстве, когда антиген принимает такую конформацию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере некоторые такие химические атомы или группы физически отделены друг от друга, когда антиген принимает альтернативную конформацию (например, линеаризуется).

Каркас или каркасная область. При использовании в настоящем документе термин относится к последовательностям вариабельной области без CDR. Поскольку последовательность CDR может быть определена согласно различным системам, сходным образом каркасная последовательность подвергается соответственно различным интерпретациям. Шесть CDR делят каркасные области на тяжелых и легких цепях на четыре подобласти (FR1, FR2, FR3 и FR4) на каждой цепи, в которых CDR1 располагается между FR1 и FR2, CDR2 между FR2 и FR3 и CDR3 между FR3 и FR4. Без указания конкретных подобластей как FR1, FR2, FR3 или FR4, каркасная область, на которую ссылаются другие, обозначает комбинированные FR в вариабельной области одной встречающейся в природе цепи иммуноглобулина. При использовании в настоящем документе FR представляет собой одну из четырех подобластей, FR1, например представляет первую каркасную область, ближайшую к аминоконцу вариабельной области и расположенную в направлении 5' относительно CDR1, а FR представляют две или более подобластей, составляющих каркасную область.

Гликан. При использовании в настоящем документе "гликан" означает компонент, представляющий собой сахарный полимер (фрагмент) (например, такой как фрагмент гликопротеина). Термин "гликан" может охватывать свободные гликаны, включая гликаны, которые были отщеплены или иным образом высвобождены из гликопротеина. Используемый в данном документе термин "гликоформа" может относиться к конкретной форме гликопротеина. То есть, если гликопротеин содержит конкретный полипептид, который потенциально может связываться с различными гликанами или группами гликанов, то каждая отдельная версия гликопротеина (т.е. когда полипептид связан с конкретным гликаном или группой гликанов) может обозначаться как "гликоформа".

Гомология. Используемый в настоящем документе термин "гомология" относится к общему родству между полимерными молекулами, например, между молекулами нуклеиновой кислоты (например, молекулами ДНК и/или молекулами РНК) и/или между молекулами полипептида. В некоторых вариантах осуществления полимерные молекулы считаются "гомологичными" друг другу, если их последовательности являются по меньшей мере на 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 99% идентичными. В некоторых вариантах осуществления полимерные молекулы считаются "гомологичными" друг другу, если их последовательности являются по меньшей мере на 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 99% сходными (например, содержат остатки с родственными химическими свойствами в соответствующих положениях). Например, как хорошо известно рядовым специалистам в

данной области, некоторые аминокислоты, как правило, классифицируют как сходные друг с другом, как "гидрофобные" или "гидрофильные" аминокислоты и/или как имеющие "полярные" или "неполярные" боковые цепи. Замена одной аминокислоты на другую того же типа часто может рассматриваться как "гомологичная" замена. Как будет понятно специалистам в данной области, доступно множество алгоритмов, которые позволяют сравнивать последовательности для определения степени их гомологии, в том числе путем разрешения пропусков заданной длины в одной последовательности относительно другой при рассмотрении того, какие остатки "соответствуют" друг другу в разных последовательностях. Например, вычисление процента гомологии между двумя последовательностями нуклеиновых кислот можно выполнить путем выравнивания двух последовательностей с целью оптимального сравнения (например, могут быть введены пропуски в одну или обе из первой и второй последовательностей нуклеиновых кислот для оптимального выравнивания, и несоответствующие последовательности могут быть проигнорированы с целью сравнения). В некоторых вариантах осуществления длина последовательности, выровненной в целях сравнения, составляет по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по существу 100% длины эталонной последовательности. Затем сравнивают нуклеотиды в соответствующих положениях нуклеотидов. Когда положение в первой последовательности занято тем же нуклеотидом, что и соответствующее положение во второй последовательности, то молекулы по этому положению являются идентичными; когда положение в первой последовательности занято нуклеотидом, сходным в отношении соответствующего положения во второй последовательности, то молекулы по этому положению являются сходными. Процент гомологии между двумя последовательностями является функцией числа идентичных и сходных положений, общих для последовательностей, с учетом числа пропусков и длины каждого пропуска, которые необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Иллюстративные алгоритмы и компьютерные программы, применимые для определения процентной гомологии между двумя нуклеотидными последовательностями, включают в себя, например, алгоритм Мейерса и Миллера (CABIOS, 1989, 4: 11-17), который был включен в программу ALIGN (версия 2.0) с использованием таблицы веса остатков PAM120, штрафа за длину пропуска 12 и штрафа за пропуск 4. Процент гомологии между двумя нуклеотидными последовательностями, в качестве альтернативы, может быть определен, например, с применением программы GAP в пакете программного обеспечения GCG с применением матрицы NWSgapdna.CMP.

При использовании в настоящем документе двадцать традиционных аминокислот и их сокращения следуют общепринятому использованию. См. Immunology-A Synthesis (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)), которая включена в настоящий документ посредством ссылки. Стереои́зомеры (например, D-аминокислоты) двадцати традиционных аминокислот, неприродные аминокислоты, такие как α - α -дизамещенные аминокислоты, N-алкиламинокислоты, молочная кислота и другие нетрадиционные аминокислоты также могут быть подходящими компонентами для полипептидов по настоящему изобретению. Примеры нетрадиционных аминокислот включают 4-гидроксипролин, γ -карбоксиглутамат, ϵ -N,N,N-триметиллизин, ϵ -N-ацетиллизин, O-фосфосерин, N-ацетилсерин, N-формилметионин, 3-метилгистидин, 5-гидроксилизин, σ -N-метиларгинин и другие подобные аминокислоты и иминокислоты (например, 4-гидроксипролин). В используемом в настоящем документе обозначении полипептида левостороннее направление представляет собой аминоконцевое направление, а правостороннее направление представляет собой карбоксиконцевое направление в соответствии со стандартным использованием и соглашением.

Человеческое антитело. Используемый в настоящем документе термин включает антитела, имеющие вариабельные и константные области, полученные (или собранные) из последовательностей человеческого иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления антитела (или компоненты антител) можно считать "человеческими", даже если их аминокислотные последовательности включают остатки или элементы, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевого типа человека (например, включают вариации последовательностей, например, которые (первоначально) могут быть введены с помощью случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или соматической мутации *in vivo*), например, в одну или более CDR, и в частности, CDR3.

Гуманизированный. Как известно в данной области, термин "гуманизированный" обычно используется для обозначения антител (или компонентов антител), аминокислотная последовательность которых включает последовательности областей V_H и V_L эталонного антитела, полученного из вида, отличного от человека (например, мыши), но также включает модификации в этих последовательностях относительно эталонного антитела, предназначенные для того, чтобы сделать их более "человекоподобными", т.е. более сходными с последовательностями зародышевого типа человека. В некоторых вариантах осуществления "гуманизированное" антитело (или компонент антитела) представляет собой антитело, которое иммуноспецифически связывается с представляющим интерес антигеном и которое имеет каркасную область (FR), по существу имеющую аминокислотную последовательность как у человеческого антитела, и определяющую комплементарность область (CDR), по существу имеющую аминокислотную последовательность как у антитела, отличного от человеческого. Гуманизированное антитело содержит по суще-

ству все по меньшей мере из одного и, как правило, двух переменных доменов (Fab, Fab', F(ab')₂, FabC, Fv), в которых все или по существу все CDR-области соответствуют таковым из иммуноглобулина вида, отличного от человека (т.е. донорного иммуноглобулина), и все или по существу все каркасные области являются таковыми с консенсусной последовательностью иммуноглобулина человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело также содержит по меньшей мере часть константной области (Fc) иммуноглобулина, обычно часть константной области иммуноглобулина человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит как легкую цепь, так и по меньшей мере переменный домен тяжелой цепи. Антитело также может включать CH₁, шарнирную область, CH₂, CH₃ и необязательно область CH₄ константной области тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит только гуманизированную область V_L. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит только гуманизированную область V_H. В некоторых определенных вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит гуманизированные области V_H и V_L.

Идентичность. Используемый в настоящем документе термин "идентичность" относится к общему родству между полимерными молекулами, например между молекулами нуклеиновой кислоты (например, молекулами ДНК и/или молекулами РНК) и/или между молекулами полипептида. В некоторых вариантах осуществления полимерные молекулы считаются "по существу идентичными" друг другу, если их последовательности являются по меньшей мере на 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 99% идентичными или по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 99% идентичными. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты или аминокислотная последовательность по существу идентична эталонной последовательности в том, что она либо идентична по последовательности, либо содержит от 1 до 5 замен по сравнению с эталонной последовательностью. Например, в некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность по существу идентична эталонной аминокислотной последовательности в том, что она либо идентична по последовательности, либо содержит от 1 до 5 аминокислотных замен по сравнению с эталонной последовательностью. Например, вычисление процента идентичности между двумя последовательностями нуклеиновой кислоты или полипептидными последовательностями можно выполнить путем выравнивания двух последовательностей с целью оптимального сравнения (например, могут быть введены гэпы в одну или обе из первой и второй последовательностей для оптимального выравнивания, и неидентичные последовательности могут не учитываться в целях сравнения). В некоторых вариантах осуществления длина последовательности, выровненной в целях сравнения, составляет по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по существу 100% длины эталонной последовательности. Затем сравнивают нуклеотиды в соответствующих положениях. Когда положение в первой последовательности занято тем же аминокислотным остатком (например, нуклеотидом или аминокислотой), что и соответствующее положение во второй последовательности, тогда молекулы в данном положении являются идентичными. Процентная идентичность между двумя последовательностями зависит от числа идентичных положений, общих для последовательностей, при этом учитывается число гэпов и длина каждого гэпа, которые необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Сравнение последовательностей и определение процентной идентичности между двумя последовательностями можно осуществлять с применением математического алгоритма. Например, процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями можно определить с применением алгоритма Meyers and Miller (CABIOS, 1989, 4: 11-17), который включен в программу ALIGN (версия 2.0). В некоторых иллюстративных вариантах осуществления сравнения нуклеиновых кислот проводят с помощью программы ALIGN с применением таблицы веса остатков РАМ120, штрафа за продолжение гэпа 12 и штрафа за открытие гэпа 4. Процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями, в качестве альтернативы, можно определить с применением программы GAP в пакете программного обеспечения GCG с применением матрицы NWSgapdna.CMP.

Улучшать, увеличивать или уменьшать. Используемые в настоящем документе термины "улучшать", "увеличивать" или "уменьшать" или грамматические эквиваленты указывают на значения относительно исходного измерения, такого как измерение у одного и того же индивидуума до начала лечения, описанного в настоящем документе, или измерение у контрольного индивидуума (или нескольких контрольных индивидуумов) в отсутствие лечения, описанного в настоящем документе. "Контрольным индивидуумом" является индивидуум, страдающий той же формой и с приблизительно такой же степенью тяжести заболевания, нарушения или состояния, что и индивидуум, подвергающийся лечению, который приблизительно того же возраста, что и индивидуум, подвергающийся лечению (чтобы убедиться, что стадии заболевания у подвергающегося лечению индивидуума и контрольного индивидуума (контрольных индивидуумов) сопоставимы).

Выделенный. При использовании в настоящем документе термин относится к веществу и/или объекту (например, нуклеиновой кислоте или полипептиду), которые были (1) отделены по меньшей мере от некоторых компонентов, с которыми они были ассоциированы при первоначальном продуцировании (будь то в природе и/или в условиях проведения эксперимента), и/или (2) сконструированы, продуциро-

ваны, получены и/или изготовлены человеком. Выделенные вещества и/или объекты могут быть отделены от приблизительно 10%, приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70%, приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или более приблизительно 99% других компонентов, с которыми они были изначально ассоциированы. В некоторых вариантах осуществления выделенные средства являются на приблизительно 80%, приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или на более чем приблизительно 99% чистыми. При использовании в настоящем документе вещество является "чистым", если оно по существу свободно от других компонентов. В некоторых вариантах осуществления, как будет понятно специалистам в данной области техники, вещество может все еще считаться "выделенным" или даже "чистым" после объединения с некоторыми другими компонентами, такими как, например, один или более носителей или вспомогательных веществ (например, буфер, растворитель, вода и т.д.); в таких вариантах осуществления процент выделения или чистоты вещества рассчитывают без учета таких носителей или вспомогательных веществ. В качестве лишь одного примера, в некоторых вариантах осуществления биологический полимер, такой как полипептид или полинуклеотид, который встречается в природе, считается "выделенным", если а) в силу своего происхождения или источника получения не связан с некоторыми или всеми из компонентов, которые сопровождают его в своем естественном состоянии в природе; б) он по существу не содержит других полипептидов или нуклеиновых кислот того же вида из видов, которые его продуцируют в природе; в) экспрессируется или иным образом ассоциирован с компонентами клетки или другой системы экспрессии, которая не относится к виду, продуцирующему его в природе. Таким образом, например, в некоторых вариантах осуществления полипептид, синтезируемый химическим путем или синтезируемый в клеточной системе, отличающейся от той, в которой он продуцируется в природе, считается "выделенным" полипептидом. Альтернативно или дополнительно, в некоторых вариантах осуществления полипептид, который был подвергнут одному или более методам очистки, может рассматриваться как "выделенный" полипептид в той степени, в которой он был отделен от других компонентов, а) с которыми он ассоциирован в природе; и/или б) с которыми он был ассоциирован при первоначальном получении.

K_D , используемая в настоящем документе, относится к константе диссоциации связывающего средства (например, антитела или его связывающего компонента) из комплекса с его партнером (например, эпитопом, с которым связывается антитело или его связывающий компонент).

K_{off} , используемая в настоящем документе, относится к константе скорости диссоциации в случае диссоциации связывающего средства (например, антитела или его связывающего компонента) из комплекса с его партнером (например, эпитопом, с которым связывается антитело или его связывающий компонент).

K_{on} , используемая в настоящем документе, относится к константе скорости ассоциации в случае ассоциации связывающего средства (например, антитела или его связывающего компонента) с его партнером (например, эпитопом, с которым связывается антитело или его связывающий компонент).

Набор. Используемый в настоящем документе термин "набор" относится к любой системе доставки для осуществления доставки материалов. Такие системы доставки могут включать системы, которые позволяют хранить, транспортировать или доставлять различные диагностические или терапевтические реагенты (например, олигонуклеотиды, ферменты и т.д. в соответствующих контейнерах) и/или вспомогательные материалы (например, буферы, письменные инструкции по выполнению анализа и т.д.) из одного места в другое. Например, наборы включают один или более корпусов (например, коробок, картриджей, бутылочек, ампул и т.д.), содержащих соответствующие реакционные реагенты и/или вспомогательные материалы. Используемый в настоящем документе термин "фрагментированный набор" относится к системам доставки, включающим два или более отдельных контейнеров, каждый из которых содержит часть от общего числа компонентов набора. Контейнеры могут быть доставлены предполагаемому получателю вместе или по отдельности. Например, первый контейнер может содержать фермент для применения в анализе, тогда как второй контейнер содержит олигонуклеотиды. Термин "фрагментированный набор" предназначен для охвата наборов, содержащих специальные реагенты для анализируемого вещества (ASR), регулируемые без ограничения в соответствии с разделом 520(e) Федерального закона о пищевых продуктах, лекарственных средствах и косметике. Действительно, любая система доставки, содержащая два или более отдельных контейнеров, каждый из которых содержит часть от общего числа компонентов набора, включена в термин "фрагментированный набор". Напротив, выражение "комбинированный набор" относится к системе доставки, содержащей все компоненты в одном контейнере (например, в одной коробке, содержащей каждый из требуемых компонентов). Термин "набор" включает как фрагментированные, так и комбинированные наборы.

Нормальный. Используемый в настоящем документе термин "нормальный" при использовании для модификации термина "индивидуум" или "субъект" относится к индивидууму или группе индивидуумов, у которых не имеется конкретное заболевание или состояние, и они также не являются носителями дан-

ного заболевания или состояния. Термин "нормальный" также используется в настоящем документе для квалификации биологического образца или образца, выделенного у нормального индивидуума или субъекта или дикого типа, например, "нормальный биологический образец".

Нуклеиновая кислота. Используемый в настоящем документе термин "нуклеиновая кислота" относится к полимеру по меньшей мере из трех нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота включает ДНК. В некоторых вариантах осуществления включает РНК. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота является однонитевой. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота является двухнитевой. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать неприродные или измененные нуклеотиды. Используемые в настоящем документе термины "нуклеиновая кислота" и "полинуклеотид" могут относиться к полимерной форме нуклеотидов с любой длиной, либо рибонуклеотидов (РНК), либо дезоксирибонуклеотидов (ДНК). Эти термины могут относиться к первичной структуре молекулы и, таким образом, предусматривают двух- и однонитевую ДНК, а также двух- и однонитевую РНК. Эти термины могут включать в качестве эквивалентов аналоги или РНК, или ДНК, полученные из аналогов нуклеотидов, и модифицированные полинуклеотиды, такие как без ограничения метилированные и/или кэпированные полинуклеотиды. Нуклеиновые кислоты могут быть связаны фосфатными связями с образованием последовательностей нуклеиновой кислоты или полинуклеотидов, хотя из уровня техники известно множество других связей (например, фосфотиоаты, боранофосфаты и т.п.).

Пациент или субъект. Используемый в настоящем документе термин "пациент" или "субъект" относится к любому организму, которому вводят предоставленное соединение или соединения, описанные в данном документе, в соответствии с настоящим изобретением, например, для экспериментальных, диагностических, профилактических и/или терапевтических целей. Иллюстративные субъекты включают животных. Термин "животное" относится к любому представителю царства животных. В некоторых вариантах осуществления "животное" относится к людям на любой стадии развития. В некоторых вариантах осуществления "животное" относится к отличным от людей животным на любой стадии развития. В некоторых вариантах осуществления отличным от человека животным является млекопитающее (например, грызун, мышь, крыса, кролик, обезьяна, собака, кошка, овца, крупный рогатый скот, примат и/или свинья). В некоторых вариантах осуществления животные включают без ограничения млекопитающих, птиц, рептилий, амфибий, рыб, насекомых и/или червей. В некоторых вариантах осуществления животное может быть трансгенным животным, генетически сконструированным животным и/или клоном. В вариантах осуществления животные представляют собой млекопитающих, таких как мыши, крысы, кролики, приматы, отличные от человека, и люди; насекомых; червей и т.д. В вариантах осуществления субъектом является человек. В некоторых вариантах осуществления субъект может страдать от заболевания, нарушения и/или состояния (например, рака) или быть восприимчивым к ним. Используемый в настоящем документе термин "популяция пациентов" или "популяция субъектов" относится к множеству пациентов или субъектов.

Фармацевтическая композиция. Используемый в данном документе термин "фармацевтическая композиция" относится к композиции, в которой активное средство составлено вместе с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями. В некоторых вариантах осуществления активное средство присутствует в количестве, соответствующем единичной дозе, подходящем для введения согласно терапевтической схеме, которая показывает статистически значимую вероятность достижения предварительно определенного терапевтического эффекта при введении соответствующей популяции. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может быть специально составлена для введения в твердой или жидкой форме, в том числе адаптированной для следующего: перорального введения, например, жидкие лекарственные формы для перорального введения (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, например, предназначенные для буккальной, подъязычной и системной абсорбции, таблетки больших размеров, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; парентерального введения, например, подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекцией в виде, например, стерильного раствора или суспензии, или состава замедленного высвобождения; местного применения, например, в виде крема, мази или пластыря с контролируемым высвобождением или аэрозоля, применяемого на коже, в легких или ротовой полости; внутривагинально или внутривлагалищно, например, в виде пессария, крема или пенки; подъязычно; внутрь глаза; чрескожно или назально, внутрь легких и в отношении других слизистых поверхностей.

Фармацевтически приемлемый. Используемый в настоящем документе термин "фармацевтически приемлемый" применительно к носителю, разбавителю или вспомогательному средству, используемым для составления композиции, раскрытой в настоящем документе, означает, что носитель, разбавитель или вспомогательное средство должны быть совместимыми с другими ингредиентами композиции и не оказывать вредного воздействия на их реципиента.

Полипептид. Используемый в настоящем документе термин относится к любой полимерной цепи аминокислот. В некоторых вариантах осуществления полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая встречается в природе. В некоторых вариантах осуществления полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая не встречается в природе. В некоторых вариантах осуще-

ствления полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая является сконструированной в том, что она спроектирована и/или получена путем действия человека. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать природные аминокислоты, неприродные аминокислоты или и те и другие или состоять из них. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать только природные аминокислоты или только неприродные аминокислоты или состоять из них. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать D-аминокислоты, L-аминокислоты или и те и другие. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать только D-аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать только L-аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать одну или более боковых групп или других модификаций, например, модифицирующих или присоединенных к одной или более боковым цепям аминокислот на N-конце полипептида, на C-конце полипептида, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления такие боковые группы или модификации могут быть выбраны из группы, состоящей из ацетилирования, амидирования, липидирования, метилирования, пегилирования и т.д., включая их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептид может быть циклическим и/или может содержать циклическую часть. В некоторых вариантах осуществления полипептид не является циклическим и/или не содержит какой-либо циклической части. В некоторых вариантах осуществления полипептид является линейным. В некоторых вариантах осуществления полипептид может представлять собой сшитый полипептид или содержать его. В некоторых вариантах осуществления термин "полипептид" может быть добавлен к названию эталонного полипептида, активности или структуры; в таких случаях он используется в настоящем документе для обозначения полипептидов, которые обладают соответствующей активностью или структурой и, таким образом, могут рассматриваться как представители одного и того же класса или семейства полипептидов. Для каждого такого класса настоящее описание предусматривает, и/или специалистам в данной области техники будут известны иллюстративные полипептиды в пределах класса, аминокислотные последовательности и/или функции которых известны; в некоторых вариантах осуществления такие иллюстративные полипептиды являются эталонными полипептидами для класса или семейства полипептидов. В некоторых вариантах осуществления представитель класса или семейства полипептидов демонстрирует значительную гомологию или идентичность последовательности, имеет общий мотив последовательности (например, характерный элемент последовательности) и/или имеет общую активность (в некоторых вариантах осуществления на сопоставимом уровне или в указанном диапазоне) с эталонным полипептидом данного класса; в некоторых вариантах осуществления со всеми полипептидами в пределах класса). Например, в некоторых вариантах осуществления полипептид-представитель демонстрирует общую степень гомологии или идентичности последовательности с эталонным полипептидом, которая составляет по меньшей мере приблизительно 30-40% и часто превышает приблизительно 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или больше, и/или включает в себя по меньшей мере одну область (например, консервативную область, которая может в некоторых вариантах осуществления представлять собой характерный элемент последовательности или содержать его), которая демонстрирует очень высокую идентичность последовательности, часто более 90% или даже 95, 96, 97, 98 или 99%. Такая консервативная область обычно охватывает по меньшей мере 3-4 и часто до 20 или больше аминокислот; в некоторых вариантах осуществления консервативная область охватывает по меньшей мере один участок из по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или больше смежных аминокислот. В некоторых вариантах осуществления пригодный полипептид может содержать фрагмент родительского полипептида или состоять из него. В некоторых вариантах осуществления пригодный полипептид может содержать множество фрагментов или состоять из них, каждый из которых находится в одном и том же родительском полипептиде в другом пространственном расположении относительно друг друга, чем в представляющем интерес полипептиде (например, фрагменты, которые непосредственно связаны в родительском, могут быть пространственно разделены в представляющем интерес полипептиде, или наоборот, и/или фрагменты могут присутствовать в другом порядке в представляющем интерес полипептиде, чем в родительском), так что представляющий интерес полипептид является производным своего родительского полипептида.

Образец. Используемый в настоящем документе термин "образец" охватывает любой образец, полученный из биологического источника. Термины "биологический образец" и "образец" используются взаимозаменяемо. Биологический образец может в качестве неограничивающего примера включать кожную ткань, ткань печени, ткань почки, легочную ткань, спинномозговую жидкость (CSF), кровь, амниотическую жидкость, сыворотку, мочу, кал, эпидермальный образец, образец кожи, буккальный мазок, сперму, амниотическую жидкость, культивируемые клетки, образец костного мозга и/или ворсинки хориона. Клеточные культуры любых биологических образцов также могут применяться в качестве биологических образцов. Биологический образец также может представлять собой, например, образец, полученный из любого органа или ткани (включая образец биопсии или аутопсии), может содержать клетки (первичные клетки или культивируемые клетки), среду, кондиционированную любой клеткой, тканью или органом, культурой ткани. В некоторых вариантах осуществления биологические образцы, подходящие для настоящего изобретения, представляют собой образцы, которые были обработаны с целью высвобождения или иным образом обеспечения доступности нуклеиновой кислоты для выявления, как

описано в настоящем документе. Фиксированные или замороженные ткани также могут применяться.

Солидная опухоль. Используемый в настоящем документе термин "солидная опухоль" относится к аномальной массе ткани, которая обычно не содержит кист или областей жидкости. В некоторых вариантах солидная опухоль может быть доброкачественной; в некоторых вариантах солидная опухоль может быть злокачественной. Специалистам в данной области будет понятно, что различные типы солидных опухолей обычно называют по типу клеток, которые их образуют. Примерами солидных опухолей являются карциномы, лимфомы и саркомы. В некоторых вариантах осуществления солидные опухоли могут представлять собой или включать опухоли надпочечника, желчного протока, мочевого пузыря, кости, головного мозга, молочной железы, шейки матки, толстой кишки, эндометрия, пищевода, глаза, желчного пузыря, желудочно-кишечного тракта, почки, гортани, печени, легкого, полости носа, носоглотки, полости рта, яичника, полового члена, гипофиза, простаты, сетчатки, слюнной железы, кожи, тонкого кишечника, желудка, яичка, тимуса, щитовидной железы, матки, влагалища и/или вульвы.

Страдающий от. У индивидуума, "страдающего от" заболевания, нарушения и/или состояния (например, любой виды рака, описанной в настоящем документе), имеется диагноз или проявляется один или более симптомов заболевания, нарушения и/или состояния.

Восприимчив к. У индивидуума, который "восприимчив к" заболеванию, нарушению и/или состоянию, не имеется диагноза и/или могут не проявляться симптомы заболевания, нарушения и/или состояния. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, который восприимчив к заболеванию, нарушению и/или состоянию (например, раку), может характеризоваться одним или более из следующего: (1) генетическая мутация, связанная с развитием заболевания, нарушения и/или состояния; (2) генетический полиморфизм, связанный с развитием заболевания, нарушения и/или состояния; (3) повышенная и/или пониженная экспрессия и/или активность белка, связанного с заболеванием, нарушением и/или состоянием; (4) привычки и/или образ жизни, связанные с развитием заболевания, нарушения и/или состояния; (5) семейный анамнез заболевания, нарушения и/или состояния; (6) реакция на определенные бактерии или вирусы; (7) воздействие определенных химических веществ. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума, который восприимчив к заболеванию, нарушению и/или состоянию, возникнет заболевание, нарушение и/или состояние. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума, который восприимчив к заболеванию, нарушению и/или состоянию, не возникнет заболевание, нарушение и/или состояние.

Терапевтически эффективное количество. Используемый в настоящем документе термин "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" означает количество, которое обеспечивает требуемый эффект, для которого его вводят. В некоторых вариантах осуществления данный термин относится к количеству, которое является достаточным при введении популяции, страдающей заболеванием, нарушением и/или состоянием или восприимчивой к ним, в соответствии с терапевтической схемой введения дозы для лечения заболевания, нарушения и/или состояния. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество представляет собой количество, которое обеспечивает снижение частоты возникновения, и/или степени тяжести, и/или задержку начала проявления, и/или задержку прогрессирования одного или более симптомов заболевания, нарушения и/или состояния. Рядовым специалистам в данной области будет понятно, что термин "терапевтически эффективное количество" в действительности не требует достижения успешного лечения у конкретного индивидуума. Скорее, терапевтически эффективным количеством может быть такое количество, которое обеспечивает конкретный требуемый фармакологический ответ у значительного числа субъектов при введении пациентам, нуждающимся в таком лечении. В некоторых вариантах осуществления ссылка на терапевтически эффективное количество может быть ссылкой на количество, измеренное в одной или более конкретных тканях (например, ткани, пораженной заболеванием, нарушением или состоянием) или жидкостях (например, крови, слюне, сыворотке крови, поту, слезах, моче и т.д.). Средним специалистам в данной области техники будет понятно, что в некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество конкретного средства или средства терапии может быть составлено и/или введено в однократной дозе. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное средство может быть составлено и/или введено в виде множества доз, например, как часть схемы введения дозы.

Лечение. Используемый в настоящем документе термин "лечение" (также "лечить" или "осуществление лечения") относится к любому введению терапевтической молекулы (например, любого соединения, описанного в настоящем документе), которое обеспечивает частичное или полное ослабление, уменьшение интенсивности, улучшение, подавление, задержку начала проявления, задержку прогрессирования, снижение тяжести и/или снижение частоты возникновения одного или более симптомов или признаков конкретного заболевания, нарушения и/или состояния (например, рака). Такое лечение может быть предназначено для субъекта, у которого не проявляются признаки соответствующего заболевания, нарушения и/или состояния, и/или для субъекта, у которого проявляются только ранние признаки заболевания, нарушения и/или состояния. Альтернативно или дополнительно такое лечение может быть предназначено для субъекта, у которого проявляются один или более установленных признаков соответствующего заболевания, нарушения и/или состояния. В вариантах осуществления лечение предусматривает введение средства, воздействующего на LAG-3, описанного в настоящем документе.

Подробное описание определенных вариантов осуществления

Ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), который также известен как кластер дифференцировки 223 (CD223), является представителем семейства супергенов иммуноглобулинов и структурно и генетически является родственным CD4. LAG-3 экспрессируется на Т-клетках, В-клетках, клетках естественных киллеров (NK) и плазмоцитоидных дендритных клетках (pDC). Как и у CD4, эктодомен LAG-3 состоит из четырех Ig-подобных доменов (D1-D4), и было продемонстрировано, что LAG-3 взаимодействует с молекулами МНС класса II (Baixeras et al., *J. Exp. Med.*, 176: 327-337 (1992)), но связывается в другом участке (Huard et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 94(11): 5744-5749 (1997)). Например, растворимый слитый белок LAG-3-иммуноглобулин (sLAG-3Ig) напрямую и специфически связывается через LAG-3 с МНС класса II на клеточной поверхности (Huard et al., *Eur. J. Immunol.*, 26: 1180-1186 (1996)).

LAG-3 активируется после активации Т-клеток и модулирует функцию Т-клеток, а также Т-клеточный гомеостаз (Sierro et al., *Expert Opin. Ther. Targets*, 15(1): 91-101(2011)). Взаимодействие LAG-3/МНС класса II может играть роль в подавлении антигензависимой стимуляции CD4+ Т-лимфоцитов, как продемонстрировано в исследованиях *in vitro* в отношении антигенспецифической пролиферации Т-клеток, более высокой экспрессии активирующих антигенов, таких как CD25, и более высоких концентраций цитокинов, таких как интерферон-гамма и интерлейкин-4 (Huard et al., *Eur. J. Immunol.*, 24: 3216-3221 (1994)). Также было показано, что CD4+CD25+ регуляторные Т-клетки (Treg) экспрессируют LAG-3 при активации, и антитела к LAG-3 подавляют супрессию индуцированными Treg-клетками как *in vitro*, так и *in vivo*, что свидетельствует о том, что LAG-3 способствует супрессорной активности Treg-клеток (Huang et al., *Immunity*, 21: 503-513 (2004)). Кроме того, было показано, что LAG-3 негативно регулирует Т-клеточный гомеостаз с помощью зависимых и независимых от Т-клеток регуляторных механизмов (Workman, C.J. and Vignali, D.A., *J. Immunol.*, 174: 688-695 (2005)).

Подгруппы обычных Т-клеток, которые являются анергическими или проявляют нарушенные функции, экспрессируют LAG-3, и LAG-3+ Т-клетки накапливаются в местах опухолей и во время хронических вирусных инфекций. Однако, хотя было показано, что мыши, нокаутные по LAG-3, демонстрируют нормальные вирус-специфические ответы CD4+ и CD8 Т-клеток, блокада пути PD-1/PD-L1 в комбинации с блокадой LAG-3 улучшала контроль вируса по сравнению с блокадой только PD-L1 (Blackburn et al., *Nat. Immunol.*, 10: 29-37 (2009) и Riechter et al., *Int. Immunol.*, 22: 13-2 (2010)). В мышинной модели с аутопереносимостью/опухолью, где трансгенные CD8+ Т-клетки представлены как неответающие/анергические *in vivo*, блокада LAG-3 или дефицит CD8+ Т-клеток усиливали пролиферацию Т-клеток, рекрутинг Т-клеток и эффекторные функции в участке опухоли (Grosso et al., *J. Clin. Invest.*, 117: 3383-92 (2007)).

Кроме того, взаимодействие между LAG-3 и его основным лигандом, МНС класса II, может играть роль в модулировании функции дендритных клеток (Andreae et al., *J. Immunol.*, 168:3874-3880, 2002). Недавние доклинические исследования подтвердили роль LAG-3 в истощении CD8+ Т-клеток (Blackburn et al., *Nat. Immunol.*, 10: 29-37, 2009), и блокада взаимодействия LAG-3/МНС класса II с применением слитого белка LAG-3Ig может быть полезной для терапии рака.

Существует потребность в антагонистах LAG-3 (например, средствах на основе антитела к LAG-3), которые связывают LAG-3 с высокой аффинностью и/или эффективно нейтрализуют активность LAG-3. В настоящем изобретении предусмотрены такие связывающие LAG-3 средства.

Средства, воздействующие на LAG-3.

Средства на основе антитела к LAG-3.

В настоящем изобретении предусмотрены, среди прочего, средства на основе антитела к LAG-3, которые связываются с эпитопом белка, кодируемого геном 3 активации лимфоцитов (LAG-3), и различные композиции и способы, связанные с ними. Например, в настоящем изобретении предусмотрены аминокислотные последовательности средств на основе антитела к LAG-3, соответствующие последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие такие аминокислотные последовательности, а также варианты таких средств на основе антитела к LAG-3. В настоящем изобретении также предусмотрены связанные векторы, композиции и способы применения средств на основе антитела к LAG-3 для лечения нарушения или заболевания, которое чувствительно к подавлению LAG-3, такого как рак или инфекционное заболевание.

В некоторых вариантах осуществления средства на основе антитела к LAG-3 (например, антитела к LAG-3 или их фрагменты) могут связываться с эпитопом LAG-3, что блокирует связывание LAG-3 с молекулами МНС класса II и подавляет опосредованную LAG-3 передачу сигнала. Например, средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с одним или более из четырех Ig-подобных внеклеточных доменов (D1-D4) белка LAG-3 (см., например, Triebel et al., *J. Exp. Med.*, 171(5): 1393-1405 (1990); и Braniquei et al., *Immunogenetics*, 47: 96-98 (1997)). В некоторых вариантах осуществления средства на основе антитела к LAG-3 могут связываться с доменом 1 (D1) и/или доменом 2 (D2) белка LAG-3. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связывать эпитоп LAG-3, что блокирует связывание LAG-3 с любым одним или более из его предполагаемых лигандов. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связывать эпитоп LAG-3, что блокирует связывание LAG-3 с двумя или более из его предполагаемых лигандов.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может подавлять или нейтрализовать активность LAG-3. Термины "подавлять" или "нейтрализовать", используемые в настоящем документе в отношении активности средства на основе антитела, могут относиться к способности по существу противодействовать, препятствовать, предупреждать, ограничивать, замедлять, нарушать, менять, исключать, останавливать или обращать, например, биологическую активность мишени или прогрессирование или тяжесть заболевания или состояния, связанного с мишенью. В некоторых вариантах осуществления мишенью является LAG-3. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние связано с LAG-3. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может подавлять или нейтрализовать активность LAG-3 по меньшей мере на приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70%, приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 100% или на значение в диапазоне, определяемом любыми двумя из вышеупомянутых значений (например, 20-100%, 40-100% или 60-95% и т.д.).

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 является выделенным. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела может быть очищено до более чем 95 или 99% чистоты, определяемой, например, электрофоретически (например, с помощью SDS-PAGE, изоэлектрического фокусирования (IEF), капиллярного электрофореза) или хроматографически (например, с помощью ионообменной или обращенно-фазовой HPLC) (см., например, Flatman et al., *J. Chromatogr.*, В 848:79-87 (2007)).

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 содержит Fc. Fc-домены могут взаимодействовать с рецепторами клеточной поверхности, что позволяет антителам активировать иммунную систему. В антителах изотипов IgG, IgA и IgD Fc-область состоит из двух идентичных фрагментов белка, полученных из второго и третьего константных доменов двух тяжелых цепей антитела; Fc-области IgM и IgE содержат три константных домена тяжелой цепи (домены C_H 2-4) в каждой полипептидной цепи. Fc-области IgG несут высококонсервативный сайт N-гликозилирования (N297). Гликозилирование Fc-фрагмента может быть необходимо для опосредованной Fc-рецептором активности. N-гликаны, прикрепленные к этому сайту, могут представлять собой преимущественно диантеннарные структуры сложного типа с фукозилированным ядром.

Хотя константные области легких и тяжелых цепей могут не участвовать в непосредственном связывании антитела с антигеном, константные области могут влиять на ориентацию переменных областей. Константные области также могут проявлять различные эффекторные функции, например участвуют в антителозависимом комплемент-опосредуемом лизисе или антителозависимой клеточной токсичности за счет взаимодействий с эффекторными молекулами и клетками.

Раскрытые средства на основе антитела к LAG-3 могут представлять собой антитела любого изотипа, включая изотип IgA, изотип IgD, изотип IgE, изотип IgG или изотип IgM. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 содержит константный домен IgG γ 1, γ 2, γ 3, или γ 4. В иллюстративном варианте осуществления средство на основе антитела к LAG-3 содержит константный домен IgG γ 4.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1. В некоторых случаях средство на основе антитела к LAG-3 может содержать тяжелую цепь иммуноглобулина, характеризующуюся по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях средство на основе антитела к LAG-3 может содержать легкую цепь иммуноглобулина, характеризующуюся по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит сигнальный пептид (подчеркнут в SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать тяжелую цепь иммуноглобулина, которая не содержит сигнальный пептид (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит сигнальный пептид (подчеркнут в SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать легкую цепь иммуноглобулина, которая не содержит сигнальный пептид (SEQ ID NO: 22).

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 (например, антитело к LAG-3) может содержать последовательность V_H, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления последовательность V_H, характеризующаяся по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью последова-

тельности, может содержать замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к LAG-3, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LAG-3. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции имеют место в областях за пределами CDR (например, в FR). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать последовательность V_h с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 3, в том числе посттрансляционные модификации данной последовательности. В некоторых вариантах осуществления V_h может содержать одну, две или три CDR, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 7.

В некоторых вариантах осуществления предусмотрено средство на основе антитела к LAG-3 (например, антитело к LAG-3), где средство на основе антитела содержит варибельный домен легкой цепи (V_L), характеризующийся по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления последовательность V_L , характеризующаяся по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью последовательности, может содержать замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но средство на основе антитела к LAG-3, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LAG-3. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в любой из аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции имеют место в областях за пределами CDR (например, в FR). Средство на основе антитела к LAG-3 необязательно содержит последовательность V_L под SEQ ID NO: 4, в том числе посттрансляционные модификации этой последовательности. В вариантах осуществления V_L содержит одну, две или три CDR, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 8, (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 9, и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления предусмотрено средство на основе антитела к LAG-3 (например, антитело к LAG-3), где средство на основе антитела содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела содержит V_h , содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3, и последовательность V_L под SEQ ID NO: 4, в том числе посттрансляционные модификации этих последовательностей.

Кроме того, в настоящем изобретении предусмотрены выделенные или очищенные последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие вышеуказанные полипептиды иммуноглобулина. Раскрытые средства на основе антитела к LAG-3 могут содержать тяжелую цепь иммуноглобулина, которая кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать тяжелую цепь иммуноглобулина, которая кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, характеризующейся по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 11. Раскрытые средства на основе антитела к LAG-3 могут содержать легкую цепь иммуноглобулина, которая кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 12. В некоторых случаях средство на основе антитела к LAG-3 может содержать легкую цепь иммуноглобулина, которая кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, характеризующейся по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 12.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 (например, антитело к LAG-3) содержит последовательность V_H , которая кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, характеризующейся по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления последовательность V_H , которая кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, характеризующейся по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью последовательности с последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 13, может содержать нуклеотидные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но средство на основе антитела к LAG-3 (например, антитело к LAG-3), содержащее V_H , кодируемый этой последовательностью, сохраняет способность связываться с LAG-3. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 нуклеотидов были замещены, вставлены и/или удалены в последовательности нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции имеют место в областях за пределами CDR (например, в FR). В некоторых вариантах осуществления V_H может содержать одну, две или три CDR, выбранные из (a) CDR-H1, кодируемой

последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 15, (b) CDR-H2, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 16, и (c) CDR-H3, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 (например, антитело к LAG-3) содержит переменный домен легкой цепи (V_L), который кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, характеризующейся по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичностью последовательности с последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления последовательность V_L , которая кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, характеризующейся по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью с последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 14, может содержать нуклеотидные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но средство на основе антитела к LAG-3 (например, антитело к LAG-3), содержащее V_L , кодируемый этой последовательностью, сохраняет способность связываться с LAG-3. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 нуклеотидов были замещены, вставлены и/или удалены в последовательности нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции имеют место в областях за пределами CDR (например, в FR). В определенных вариантах осуществления V_L содержит одну, две или три CDR, выбранные из (a) CDR-L1, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 18, (b) CDR-L2, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 19, и (c) CDR-L3, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать делецию на конце легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать делецию 3 или более аминокислот на конце легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать делецию 7 или меньше аминокислот на конце легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать делецию 3, 4, 5, 6 или 7 аминокислот на конце легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать вставку в легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может содержать вставку 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или больше аминокислот в легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления предусмотренное средство на основе антитела к LAG-3 имеет структуру, которая включает одну или более дисульфидных связей. В некоторых вариантах осуществления одна или более дисульфидных связей представляют собой или включают дисульфидную связь в ожидаемом положении иммуноглобулина IgG4. В некоторых вариантах осуществления дисульфидная связь присутствует в одном или более остатках, соответствующих положениям, выбранным из остатка 41, 115, 147, 160, 216, 239, 242, 274, 334, 380 и 438 из SEQ ID NO: 1 (или остатка 22, 96, 128, 141, 197, 220, 223, 255, 315, 361 и 419 из SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах осуществления дисульфидная связь присутствует в одном или более остатках, соответствующих положениям, выбранным из остатка 45, 115, 161, 221 и 241 из SEQ ID NO: 2 (или остатка 23, 93, 139, 199 и 219 из SEQ ID NO: 22). Переменная область легкой цепи может совпадать с переменной областью тяжелой цепи, а константная область легкой цепи может совпадать с первой константной областью тяжелой цепи. Остальные константные области тяжелых цепей могут совпадать друг с другом.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с белком LAG-3 с K_D , составляющей более чем приблизительно 1 микромоляр. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с белком LAG-3 с K_D , составляющей менее или равной приблизительно 1 микромоляр (например, приблизительно 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,025, 0,01, 0,001 мкМ или меньше). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с белком LAG-3 с K_D , составляющей менее или равной приблизительно 100 наномоляр (например, приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 2,5, 1, 0,1 нМ или меньше). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с белком LAG-3 с K_D , составляющей менее или равной приблизительно 10 наномоляр (например, приблизительно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,1, 0,01 нМ или меньше). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с белком LAG-3 с K_D , составляющей менее или равной приблизительно 100 пикомоляр (например, приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 2,5, 1, 0,1 пМ или меньше). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с белком LAG-3 с K_D , составляющей менее или равной приблизительно 10 пикомоляр (например, приблизительно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,1, 0,01 пМ или меньше). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с белком LAG-3 с K_D , составляющей менее или равной приблизительно 1 наномоляр (например, приблизительно 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,025, 0,01, 0,01 нМ или меньше). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с LAG-3 с K_D , составляющей менее или равной 200 пМ (например, приблизительно 200, 190, 175, 150, 125, 110, 100, 90, 80, 75, 60, 50, 40, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 пМ или меньше). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может связываться с белком LAG-3 с K_D в диапазо-

не, определяемом любыми двумя из вышеуказанных значений (например, в диапазоне от 1 пМ до 1 мкМ). K_D можно измерять с помощью любого подходящего анализа. Например, K_D можно измерять с помощью анализа связывания радиоактивно меченого антигена (RIA) (см., например, Chen et al., *J. Mol. Biol.*, 293:865-881 (1999); Presta et al., *Cancer Res.*, 57:4593-4599 (1997)). Например, K_D можно измерять с помощью анализа поверхностного плазмонного резонанса (например, с применением BIACORE®-2000 или BIACORE®-3000). Другие неограничивающие примеры включают в себя сортировку клеток с активацией флуоресценции (FACS), отделяемые гранулы (например, магнитные гранулы), конкурентное связывание в жидкой фазе (KINEXA™), пэннинг антигена и/или ELISA (см., например, Janeway et al. (eds.), *Immunobiology*, 5th ed., Garland Publishing, New York, NY, 2001).

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 представляет собой моноклональное антитело к LAG-3 или его фрагмент или содержит его. Примеры фрагментов антител включают без ограничения (1) Fab-фрагмент, который представляет собой моновалентный фрагмент, состоящий из доменов V_L , V_H , C_L и C_{H1} , (2) F(ab')₂-фрагмент, который представляет собой бивалентный фрагмент, состоящий из двух Fab-фрагментов, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области, (3) Fv-фрагмент, состоящий из доменов V_L и V_H одного плеча антитела (например, scFv), (4) Fab'-фрагмент, который образуется в результате разрушения дисульфидного мостика F(ab')₂-фрагмента с применением мягких восстанавливающих условий, (5) дисульфидно-стабилизированный Fv-фрагмент (dsFv) и (6) однодоменное антитело (sdAb), которое представляет собой полипептид одного домена варибельной области антитела (V_H или V_L), который специфически связывает антиген.

Дополнительные средства, воздействующие на LAG-3.

Также другие средства, воздействующие на LAG-3, также подходят для применения в любом из способов (например, в путях терапевтического применения и схемах введения дозы), описанных в настоящем документе.

В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой малую молекулу. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой связывающее LAG-3 средство. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой IMP321, релатлимаб (BMS-986016), BI 754111, GSK2831781 (IMP-731), Novartis LAG525 (IMP701), REGN3767, MK-4280, MGD-013, GSK-2831781, FS-118, XmAb22841, INCAGN-2385, FS-18, ENUM-006, AVA-017, AM-0003, биспецифический аффамер Avacta PD-L1/LAG-3, антитело к LAG-3 iOnctura, антитело к LAG-3 Arcus или Sym022 или ингибитор LAG-3, описанный в WO 2016/126858, WO 2017/019894 или WO 2015/138920, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Частота мутаций.

Средство на основе антитела к LAG-3 по настоящему изобретению может содержать последовательность тяжелой цепи, которая характеризуется частотой мутаций, составляющей по меньшей мере приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20% или выше относительно последовательности зародышевого типа. Средства на основе антитела по настоящему изобретению могут содержать область CDR3, которая представляет собой последовательность легкой цепи с частотой мутаций, составляющей по меньшей мере приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20% или выше относительно последовательности зародышевого типа. Средства на основе антитела по настоящему изобретению могут содержать последовательность тяжелой цепи и легкой цепи с частотой мутаций, составляющей по меньшей мере приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20% или выше относительно последовательности зародышевого типа. Средства на основе антитела по настоящему изобретению могут содержать область V_H из семейства V_H , выбранного из группы, состоящей из любого из семейств V_H 4-59.

Фрагменты антител.

В одном аспекте средство на основе антитела к LAG-3 в соответствии с любым из указанных выше вариантов осуществления может представлять собой фрагмент антитела. Фрагмент антитела включает часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая или варибельная область интактного антитела. Фрагменты антител включают без ограничения Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, диатело, линейные антитела, полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител, и scFv-фрагменты, и другие фрагменты, описанные ниже. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное антитело, например, интактное антитело IgG1 или другого класса или изотипа антитела, как описано в настоящем документе. (См., например, Hudson et al., *Nat. Med.*, 9:129-134 (2003); Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, pp. 269-315 (1994); Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993); WO 93/01161 и патенты США № 5571894, 5869046, 6248516 и 5587458).

Полноразмерное антитело, интактное антитело или целое антитело представляет собой антитело, имеющее структуру, по существу сходную со структурой нативного антитела, или имеющее тяжелые цепи, которые содержат Fc-область, как определено в настоящем документе. Фрагменты антител могут быть получены различными с помощью различных методик, включая без ограничения протеолитическое расщепление интактного антитела, а также продуцирование рекомбинантными клетками-хозяевами (например, *E. coli* или фаг), как известно в данной области.

Fv представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный антигенраспознающий и антигенсвязывающий сайт. Этот фрагмент содержит димер из доменов варибельной области одной тяжелой и одной легкой цепи в тесной нековалентной ассоциации. В результате сворачивания этих двух доменов образуются шесть гиперварибельных петель (по три петли из каждой из цепей H и L), которые вносят аминокислотные остатки для связывания антигена и придают антителу антигенсвязывающую специфичность. Однако даже одна варибельная область (или половина Fv, содержащая только три CDR, специфичные в отношении антигена) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем полный сайт связывания.

Одноцепочечный Fv (sFv или scFv) представляет собой фрагмент антитела, который содержит домены антитела V_H и V_L, соединенные в одну полипептидную цепь. Полипептид sFv может дополнительно содержать полипептидный линкер между доменами V_H и V_L, который позволяет sFv сформировать необходимую структуру для связывания антигена (см., например, Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); Borrebaeck 1995, ниже).

Диатело представляет собой небольшой фрагмент антитела, полученный путем конструирования sFv-фрагмента с коротким линкером (например, приблизительно 5-10 остатков) между доменами V_H и V_L, в результате чего достигается межцепочечное, а не внутрицепочечное спаривание V-доменов, что приводит к получению бивалентного фрагмента. Биспецифические диатела представляют собой гетеродимеры двух перекрестных sFv-фрагментов, в которых домены V_H и V_L из двух антител присутствуют в разных полипептидных цепях (см., например, EP 404,097; WO 93/11161 и Hollinger et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)).

Доменные антитела (dAb), которые можно получить в полностью человеческой форме, представляют собой наименьший из известных антигенсвязывающих фрагментов антител в диапазоне от приблизительно 11 кДа до приблизительно 15 кДа. dAb являются устойчивыми варибельными областями тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов (V_H и V_L соответственно). Они экспрессируются на высоком уровне в культуре микробных клеток, демонстрируют благоприятные биофизические свойства, включая, например, без ограничения, растворимость и термостабильность, и хорошо подходят для отбора и созревания аффинности с помощью систем отбора *in vitro*, таких как, например, фаговый дисплей. dAb являются биологически активными в виде мономеров и, благодаря их небольшому размеру и присущей стабильности, могут быть форматированы в виде более крупных молекул для создания лекарственных средств с пролонгированными периодами полужизни в сыворотке крови или другими видами фармакологической активности. (См., например, WO 9425591 и US 20030130496).

Fv и sFv являются единственными видами с интактными комбинированными сайтами, которые лишены константных областей. Таким образом, они пригодны для снижения неспецифического связывания при применении *in vivo*. Слитые белки sFv можно сконструировать с обеспечением слияния эффекторного белка на амино- или карбоксиконце sFv. Фрагмент антитела также может представлять собой "линейное антитело" (см., например, патент США № 5641870). Такие фрагменты, представляющие собой линейные антитела, могут быть моноспецифическими или биспецифическими.

Химерные и гуманизированные антитела.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 представляет собой моноклональное антитело, включая химерное, гуманизированное или человеческое антитело, или содержит его.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3, предусмотренное в настоящем документе, может представлять собой химерное антитело (см., например, патент США № 4816567 и Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). Химерное антитело может представлять собой антитело, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи получена из определенного источника или вида, тогда как остальная часть тяжелой и/или легкой цепи получена из другого источника или вида. В одном примере химерное антитело может содержать отличную от человеческой варибельную область (например, варибельную область, полученную от мыши, крысы, хомяка, кролика или отличного от человека примата, такого как обезьяна) и человеческую константную область. В дополнительном примере химерное антитело может представлять собой антитело с "переключенным классом", в котором класс или подкласс был изменен по сравнению с исходным антителом. Химерные антитела включают их антигенсвязывающие фрагменты.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело может представлять собой гуманизированное антитело (см., например, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.*, 13:1619-1633 (2008); Riechmann et al., *Nature*, 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); патенты

США № 5821337, 7527791, 6982321 и 7087409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005); Padlan, *Mol. Immunol.*, 28:489-498 (1991); Dall'Acqua et al., *Methods*, 36:43-60 (2005); Osbourn et al., *Methods*, 36:61-68 (2005) и Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000)). Гуманизированное антитело представляет собой химерное антитело, содержащее аминокислотные остатки из гипервариабельных областей, отличных от человеческих, и аминокислотные остатки из FR человека. В определенных вариантах осуществления гуманизированное антитело будет содержать по существу все по меньшей мере из одного и, как правило, двух вариабельных доменов, в которых все или по существу все гипервариабельные области (например, CDR) соответствуют областям антитела, отличного от человеческого, и все или по существу все FR соответствуют таковым у человеческого антитела. Гуманизированное антитело необязательно может содержать по меньшей мере часть константной области антитела, полученной из человеческого антитела.

Антитело, отличное от человеческого, можно гуманизировать с целью снижения иммуногенности для человека с сохранением при этом специфичности и аффинности исходного антитела, отличного от человеческого. Гуманизированное антитело может содержать один или более вариабельных доменов, содержащих одну или более CDR или их частей, полученных из антитела, отличного от человеческого. Гуманизированное антитело может содержать один или более вариабельных доменов, содержащих одну или более FR или их частей, полученных из последовательностей человеческого антитела. Гуманизированное антитело необязательно может содержать по меньшей мере часть константной области человека. В некоторых вариантах осуществления один или более остатков FR в гуманизированном антителе замещены соответствующими остатками антитела, отличного от человеческого (например, антитела, из которого получены остатки CDR), для восстановления или улучшения специфичности или аффинности антитела.

Каркасные области человека, которые можно использовать для гуманизации, включают без ограничения каркасные области, выбранные с применением способа "наилучшего соответствия"; каркасные области, полученные из консенсусной последовательности человеческих антител определенной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепи; зрелые (соматически мутированные) каркасные области человека или каркасные области зародышевого типа человека; и каркасные области, полученные при скрининге библиотек FR (см., например, Sims et al., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Carter et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol.*, 151:2623 (1993); Baca et al., *J. Biol. Chem.*, 272:10678-10684 (1997) и Rosok et al., *J. Biol. Chem.*, 271:22611-22618 (1996)).

Человеческие антитела.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3, предусмотренное в настоящем документе, является человеческим антителом. Человеческие антитела можно получать с применением различных методик, известных в данной области (см., например, van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001) и Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.*, 20:450-459 (2008)). Человеческое антитело может представлять собой антитело, обладающее аминокислотной последовательностью, которая соответствует последовательности антитела, продуцируемого человеком или человеческой клеткой или полученного из источника, отличного от человеческого, в котором применяются репертуары человеческих антител или другие последовательности, кодирующие человеческие антитела. Это определение человеческого антитела конкретно исключает гуманизированное антитело, содержащее антигенсвязывающие остатки, отличные от человеческих. Человеческие антитела могут быть получены путем введения иммуногена (например, белка LAG-3) трансгенному животному, которое было модифицировано с обеспечением продуцирования интактных человеческих антител или интактных антител с вариабельными областями человека в ответ на антигенную стимуляцию (см., например, Lonberg, *Nat. Biotech.*, 23:1117-1125 (2005); патенты США № 6075181, 6150584, 5770429 и 7041870 и публикацию заявки на патент США № US 2007/0061900). Вариабельные области человека из интактных антител, вырабатываемых такими животными, можно дополнительно модифицировать, например, путем объединения с другой константной областью человека.

Человеческие антитела также можно получить с помощью способов на основе гибридом. Например, человеческие антитела можно получать из клеточных линий миеломы человека и гетеромиеломы мышечеловека с применением технологии В-клеточной гибридомы человека и других способов (см., например, Kozbor, *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (1987); Boerner et al., *J. Immunol.*, 147:86 (1991); Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006); патент США № 7189826; Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4): 265-268 (2006); Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3): 927-937 (2005) и Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3): 185-91 (2005)). Человеческие антитела также можно получать путем выделения последовательностей вариабельного домена клона Fv, выбранных из библиотек фагового дисплея, полученных от человека. Такие последовательности вариабельного домена затем можно объединять с желаемой константной областью человека.

Получение из библиотек.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3, предусмотренное в настоящем документе, может быть выделено при скрининге комбинаторных библиотек на наличие антител с желаемой активностью или видами активности (см., например, в Hoogenboom et al., *Methods in Mo-*

lecular Biology 178: 1-37 (2001); McCafferty et al., Nature, 348:552-554; Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, Methods in Molecular Biology, 248: 161-175 (2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol., 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol., 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101(34): 12467-12472 (2004) и Lee et al., J. Immunol. Methods, 284(1-2): 119-132 (2004)). Репертуары генов V_H и V_L можно клонировать отдельно (например, с помощью ПЦР) и случайным образом рекомбинировать в библиотеках (например, в фаговых библиотеках) и подвергать скринингу (см., например, Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)). Альтернативно, не подвергнутый воздействию репертуар можно клонировать (например, от человека) с получением единого источника антител к широкому спектру чужеродных, а также аутоантигенов без какой-либо иммунизации (см., например, Griffiths et al., EMBO J., 12: 725-734 (1993)). Альтернативно, не подвергнутые воздействию библиотеки можно получать синтетически путем клонирования неперегруппированных сегментов V -гена из стволовых клеток и кодирования областей CDR3 с применением случайных праймеров или путем перегруппировки сегментов V -гена *in vitro* (см., например, Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992); патент США № 5750373 и публикации заявок на патент США № US 2005/0079574, US 2005/0119455, US 2005/0266000, US 2007/0117126, US 2007/0160598, US 2007/0237764, US 2007/0292936 и US 2009/0002360). Антитела или фрагменты антител, выделенные из библиотек антител человека, могут рассматриваться в настоящем документе как человеческие антитела или фрагменты человеческих антител.

Варианты аминокислотных последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления рассматриваются варианты аминокислотных последовательностей средств на основе антитела к LAG-3, предусмотренных в настоящем документе. Вариант, как правило, может отличаться от полипептида, конкретно раскрытого в настоящем документе, одной или более заменами, делециями, добавлениями и/или вставками. Такие варианты могут встречаться в природе или могут быть получены синтетически, например путем модификации одной или более вышеуказанных полипептидных последовательностей по настоящему изобретению и оценки одного или более видов биологической активности полипептида, как описано в настоящем документе, и/или с применением любой из ряда методик, хорошо известных в данной области. Например, может быть желательным улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств антитела. Варианты аминокислотной последовательности антитела можно получить путем введения соответствующих модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции, и/или вставки, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Любая комбинация делеции, вставки и замены может быть осуществлена для получения конечной конструкции при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками, например, антигенсвязывающими.

В некоторых вариантах осуществления предусмотрены варианты антител с одной или более аминокислотными заменами. Сайты, представляющие интерес в отношении мутагенеза путем замены, включают CDR и FR. Аминокислотные замены можно вводить в представляющее интерес антитело, а продукты подвергать скринингу в отношении желаемой активности, например, сохраненного/улучшенного связывания антигена, пониженной иммуногенности или улучшенной ADCC или CDC.

Например, одну или более аминокислот можно удалить или вставить в вышеупомянутые переменные области тяжелой и легкой цепи. Любое количество любых подходящих аминокислот можно удалить или вставить в аминокислотную последовательность переменных областей тяжелой и легкой цепи.

В этом отношении по меньшей мере одну аминокислоту (например, 2 или больше, 5 или больше, или 10 или больше аминокислот), но не более 20 аминокислот (например, 18 или меньше, 15 или меньше, или 12 или меньше аминокислот), можно удалить или вставить в аминокислотную последовательность переменных областей тяжелой и легкой цепи полипептида, описанного в настоящем документе (например, любого средства на основе антитела к LAG-3, любого средства на основе антитела к PD-1 или любого средства на основе антитела к TIM-3, описанного в настоящем документе). В некоторых вариантах осуществления 1-10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) удаляют или вставляют в аминокислотную последовательность переменных областей тяжелой цепи и/или переменных областей легкой цепи. Аминокислоту(ы) можно удалить или вставить в любую из вышеупомянутых переменных областей тяжелой цепи и/или переменных областей легкой цепи в любом подходящем месте. Например, аминокислоту(ы) можно удалить или вставить в CDR (например, CDR1, CDR2 или CDR3) переменных областей тяжелой цепи и/или переменных областей легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции могут происходить в одной или более CDR, где замены, вставки или делеции по существу не снижают связывание антитела с антигеном. Например, консервативные замены, которые по существу не снижают аффинность связывания, можно осуществлять в CDR. Такие изменения могут иметь место за пределами "горячих точек" CDR или SDR. В некоторых вариантах осуществления вариантов последовательностей V_H и V_L каждая CDR либо не изменена, либо содержит не более одной, двух или трех аминокислотных замен.

Изменения (например, замены) в CDR можно осуществлять, например, для улучшения аффинности

антитела. Такие изменения можно осуществить в кодирующих CDR кодонах с высокой частотой мутаций во время соматического созревания (см., например, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.*, 207:179-196 (2008)), а полученный вариант можно проверить в отношении аффинности связывания. Созревание аффинности (например, с использованием ПЦР с внесением ошибок, перетасовки цепей, рандомизации CDR или олигонуклеотид-направленного мутагенеза) можно использовать для улучшения аффинности антител (см., например, Hoogenboom et al., *Methods in Molecular Biology*, 178:1-37 (2001)). Остатки CDR, участвующие в связывании антигена, можно конкретно идентифицировать, например, с применением аланин-сканирующего мутагенеза или моделирования (см., например, Cunningham and Wells, *Science*, 244: 1081-1085 (1989)). На CDR-H3 и CDR-L3 часто можно нацеливаться. Альтернативно или дополнительно, кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело применяют для идентификации точек контакта между антителом и антигеном. На такие контактирующие остатки и соседние остатки можно нацеливаться, или они могут быть исключены из кандидатов на замену. Варианты можно подвергать скринингу, чтобы определить, содержат ли они требуемые свойства.

Вставки и делеции аминокислотной последовательности включают аминок- и/или карбоксиконцевые слияния, варьирующие в длину от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или больше остатков, а также вставки внутри последовательности и делеции одного или нескольких аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метионильным остатком. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние N-или C-конца антитела с ферментом (например, для антителонаправленного средства терапии на основе фермента и пролекарства) или полипептидом, который обеспечивает увеличение периода полужизни антитела в сыворотке крови. Примеры вариантов со вставкой внутри последовательности молекул антитела включают вставку 3 аминокислот в легкую цепь. Примеры концевых делеций включают антитело с делецией 7 или меньше аминокислот на конце легкой цепи.

Варианты Fc-области.

В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных модификаций могут вводиться в Fc-область средства на основе антитела, предусмотренного в настоящем документе, с получением тем самым варианта Fc-области. Fc-область в настоящем документе представляет собой C-концевую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей мере часть константной области. Fc-область включает в себя Fc-области с нативной последовательностью и варианты Fc-областей. Вариант Fc-области может содержать последовательность Fc-области человека (например, Fc-область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека), содержащую аминокислотную модификацию (например, замену) в одном или более аминокислотных положениях.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении может предусматриваться вариант антитела, который обладает некоторыми, но не всеми эффекторными функциями, что делает его желательным кандидатом для путей применения, при которых важен период полужизни антитела *in vivo*, но при этом определенные эффекторные функции (такие как комплементзависимые и ADCC) являются ненужными или вредными. Анализы цитотоксичности *in vitro* и/или *in vivo* можно проводить для подтверждения снижения/истощения видов активности CDC и/или ADCC. Например, анализы связывания с Fc-рецептором (FcR) можно проводить для того, чтобы удостовериться, что антитело не связывается с FcγR (следовательно, вероятно, не обладает активностью ADCC), но сохраняет способность связывания с FcRn. Неограничивающие примеры анализов *in vitro* для оценки активности ADCC представляющей интерес молекулы описаны в патентах США № 5500362 и 5821337. Альтернативно, можно применять анализы, не основанные на радиоактивности (например, анализы, не основанные на радиоактивности, в отношении цитотоксичности АСТП™ и CytoTox 96®). Применимые эффекторные клетки для таких анализов могут включать в себя мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) и клетки естественные киллеры (NK). Альтернативно или дополнительно, активность ADCC представляющей интерес молекулы можно оценить *in vivo*, например, на животной модели (см., например, Clynes et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 95:652-656 (1998)). Также можно проводить анализы связывания C1q, чтобы подтвердить, что антитело способно или неспособно связывать C1q и, следовательно, обладает или не обладает активностью CDC (см., например, WO 06/029879, WO 99/51642 и WO 05/100402; патент США № 6194551 и Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)). Для оценки активации комплемента можно проводить анализ CDC (см., например, Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods*, 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood*, 101:1045-1052 (2003) и Cragg et al., *Blood*, 103:2738-2743 (2004)). Определения связывания FcRn и выведения/периода полужизни *in vivo* также можно осуществлять с помощью способов, известных в данной области (см., например, Petkova, S. B. et al., *Int'l. Immunol.*, 18(12): 1759-1769 (2006)). Антитела с пониженной эффекторной функцией могут включать антитела с заменой одного или более из остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области; или по двум или более аминокислотным положениям 265, 269, 270, 297 и 327, такие как Fc-мутант с заменой остатков 265 и 297 на аланин (см., например, патенты США №№ 6737056 и 7332581). Также могут быть включены варианты антител с улучшенным или уменьшенным связыванием с FcR (см., например, патент США № 6737056; WO 04/056312 и Shields et al., *J. Biol. Chem.*, 9(2): 6591-6604 (2001)). В некоторых вариантах осуществления вариант анти-

тела может содержать Fc-область с одной или более аминокислотными заменами, которые улучшают ADCC, например, заменами по положениям 298, 333 и/или 334 Fc-области.

Антитела могут характеризоваться увеличенным периодом полужизни и улучшенным связыванием с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) (см., например, US 2005/0014934). Такие антитела могут содержать Fc-область с одной или более заменами в ней, которые улучшают связывание Fc-области с FcRn, и включают антитела с заменами одного или более остатков Fc-области: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 или 434 (см., например, патент США № 7371826). Также рассматриваются другие примеры вариантов Fc-области (см., например, Duncan & Winter, *Nature*, 322:738-40 (1988); патенты США № 5648260 и 5624821 и WO94/29351).

Варианты гликозилирования.

В настоящем изобретении также предусмотрены гликозилированные варианты антител. В некоторых вариантах осуществления предусмотренные тяжелая цепь, легкая цепь и/или антитело могут быть гликозилированными по одному или более сайтам. В некоторых вариантах осуществления гликан может быть связан с Fc-областью посредством атома N. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 гликозилировано по Asn297 (нумерация согласно Kabat).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрена композиция, содержащая одну или более гликоформ средства на основе тяжелой цепи, легкой цепи и/или антитела, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления предусмотренная композиция содержит несколько гликоформ, присутствующих в указанных абсолютных и/или относительных количествах. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрены композиции, которые могут по существу не содержать одной или более конкретных гликоформ тяжелой цепи, легкой цепи и/или антитела, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления количество гликоформы может выражаться в виде "процента". В случае любого заданного параметра "процент" относится к числу молей конкретного гликана (гликана X) относительно общего числа молей гликанов в препарате. В некоторых вариантах осуществления "процент" относится к числу молей гликана X, высвобожденного из Fc под действием PNGазы F, относительно общего числа молей выявленных гликанов, высвобожденных из Fc под действием PNGазы F.

В некоторых вариантах осуществления антитела изменяют для увеличения или уменьшения уровня их гликозилирования (например, путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, что создается или удаляется один или более сайтов гликозилирования). Углевод, присоединенный к Fc-области антитела, можно изменить. Нативные антитела из клеток млекопитающих обычно содержат разветвленный двухантенный олигосахарид, присоединенный посредством N-связи к Asn297 домена C_H2 Fc-области (см., например, Wright et al., *TIBTECH*, 15:26-32 (1997)). Олигосахарид может представлять собой различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу, сиаловую кислоту, фукозу, присоединенную к GlcNAc в стебле двухантенной структуры олигосахаридов. Модификации олигосахаридов в антителе можно осуществлять, например, для создания вариантов антитела с определенными улучшенными свойствами. Гликозилированные варианты антител могут иметь улучшенную функцию ADCC и/или CDC.

В некоторых вариантах осуществления варианты антител, предусмотренные в настоящем документе, могут иметь углеводную структуру, в которой отсутствует фукоза, присоединенная (прямо или опосредованно) к Fc-области. Например, количество фукозы в таком антителе может составлять от 1 до 80%, от 1 до 65%, от 5 до 65% или от 20 до 40%. Количество фукозы можно определить путем расчета среднего количества фукозы в цепи сахара на Asn297 относительно суммы всех гликоструктур, присоединенных к Asn297 (см., например, WO 08/077546). Asn297 относится к остатку аспарагина, расположенному приблизительно в положении 297 в Fc-области (нумерация остатков в Fc-области согласно Eu); однако Asn297 также может располагаться на приблизительно ± 3 аминокислоты выше или ниже положения 297, т.е. между положениями 294 и 300, вследствие незначительных вариаций последовательности в антителах. В некоторых вариантах осуществления эквивалентный остаток Asn297 также может располагаться на приблизительно ± 7 аминокислот выше или ниже положения 297. Такие фукозилированные варианты могут характеризоваться улучшенной функцией ADCC (см., например, публикации заявок на патент США № US 2003/0157108; US 2004/0093621; US 2003/0157108; WO 00/61739; WO 01/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 03/085119; WO 03/084570; WO 05/035586; WO 05/035778; WO 05/053742; WO 02/031140; Okazaki et al., *J. Mol. Biol.*, 336:1239-1249 (2004) и Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.*, 87: 614 (2004)). Клеточные линии (например, нокаутные клеточные линии) можно применять для получения дефукозилированных антител, например, клетки CHO Lec13, дефицитные по фукозилированию белка, и клетки CHO, нокаутные по гену альфа-1,6-фукозилтрансферазы (FUT8) (см., например, Ripka et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 249:533-545 (1986); Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.*, 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); WO 03/085107; EP 1176195A1, WO 04/056312; WO 04/057002; WO 03/084570; WO 03/085119; WO 03/05691; 4 WO 04/024927 и публикации заявок на патент США № US 2003/0157108; US 2003/0115614, US 2004/093621, US 2004/110282, US 2004/110704 и US

2004/132140). Также могут быть включены другие гликозилированные варианты антител (см., например, патент США № 6602684; публикация заявки на патент США № US 2005/0123546; WO 03/011878; WO 97/30087; WO 98/58964 и WO 99/22764).

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления средства на основе антитела к LAG-3 по настоящему изобретению могут продуцироваться клеткой-хозяином с одним или более видами экзогенной и/или высокой эндогенной гликозилтрансферазной активности. Гены с гликозилтрансферазной активностью включают $\beta(1,4)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу III (GnTIII), α -маннозидазу II (ManII), $\beta(1,4)$ -галактозилтрансферазу (GalT), $\beta(1,2)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу I (GnTI) и $\beta(1,2)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу II (GnTII). Гликозилтрансферазы могут предусматривать слияние, содержащее домен локализации Гольджи (см., например, Lively et al., *Glycobiology*, 318:813-22 (1995); Schachter, *Biochem. Cell Biol.*, 64:163-81 (1986); предварительные заявки на патент США № 60/495142 и 60/441307; публикации заявок на патент США № US 2003/0175884 и US 2004/0241817 и WO 04/065540). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может экспрессироваться в клетке-хозяине, содержащей разрушенный или дезактивированный ген гликозилтрансферазы. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение может быть направлено на клетку-хозяина, содержащую (а) выделенную нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность, кодирующую полипептид, обладающий гликозилтрансферазной активностью; и (б) выделенный полинуклеотид, кодирующий средство на основе антитела к LAG-3 по настоящему изобретению, которое связывает LAG-3 человека. В некоторых вариантах осуществления модифицированное средство на основе антитела к LAG-3, продуцируемое клеткой-хозяином, имеет константную область IgG или ее фрагмент, содержащий Fc-область. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 может представлять собой гуманизованное антитело или его фрагмент, содержащий Fc-область. Выделенная нуклеиновая кислота может представлять собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая была отделена от компонента ее естественной среды. Выделенная нуклеиновая кислота может включать молекулу нуклеиновой кислоты, содержащуюся в клетках, которые обычно содержат молекулу нуклеиновой кислоты, но молекула нуклеиновой кислоты присутствует внехромосомно или в хромосомном местоположении, которое отличается от ее естественного хромосомного местоположения.

В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрены системы экспрессии в клетках-хозяевах для получения антител по настоящему изобретению, имеющих модифицированные профили гликозилирования. В частности, в настоящем изобретении предусмотрены системы клеток-хозяев для получения гликоформ антител по настоящему изобретению, характеризующихся улучшенным терапевтическим действием. Следовательно, в настоящем изобретении предусмотрены системы экспрессии в клетках-хозяевах, выбранные или сконструированные для обеспечения экспрессии полипептида, обладающего гликозилтрансферазной активностью.

Как правило, культивируемую клеточную линию любого типа, включая клеточные линии, обсуждаемые выше, можно применять в качестве фона для конструирования линий клеток-хозяев по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления клетки CHO, клетки ВНК, клетки NS0, клетки SP2/0, клетки миеломы YO, клетки миеломы мыши P3X63, клетки PER, клетки PER.C6 или клетки гибридомы, другие клетки млекопитающих, клетки дрожжей, клетки насекомых или клетки растений применяют в качестве фоновой клеточной линии для получения сконструированных клеток-хозяев по настоящему изобретению.

Клетки-хозяева, которые содержат кодирующую последовательность средства на основе антитела по настоящему изобретению и которые экспрессируют биологически активные продукты гена, можно идентифицировать с помощью по меньшей мере четырех общих подходов; (а) гибридизация ДНК-ДНК или ДНК-РНК; (б) наличие или отсутствие функций "маркерного" гена; (с) оценка уровня транскрипции, измеренного по экспрессии соответствующих транскриптов mRNA в клетке-хозяине; и (д) обнаружение продукта гена, измеряемого с помощью иммунологического анализа, или по его биологической активности.

Например, получение профилей N-гликанов средства на основе антитела к LAG-3 с занятым сайтом N-гликозилирования можно применять для идентификации присутствующих видов гликанов.

В вариантах осуществления сайт гликозилирования находится на тяжелой цепи средства на основе антитела к LAG-3. В вариантах осуществления сайт гликозилирования располагается в N291 тяжелой цепи.

Иллюстративные виды олигосахаридов, присутствующие в средстве на основе гликозилированного антитела к LAG-3, включают любой из G0F, G1F, G2F, Man-5, GO-GN, GOF-GN, G0, G0F+GN и G1F+GN, а также другие виды олигосахаридов (например, другие виды олигосахаридов, обычно наблюдаемые на IgG, экспрессируемых в культуре клеток млекопитающих).

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G1F.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G2F.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает Man-5.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F и G1F. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F и G2F. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F и Man-5. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G1F и G2F. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G1F и Man-5. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G2F и Man-5. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F, G1F и G2F. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F, G1F и Man-5. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F, G2F и Man-5. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G1F, G2F и Man-5. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов предусматривает G0F, G1F, G2F и Man-5. В вариантах осуществления совокупность N-связанных олигосахаридов дополнительно предусматривает G0-GN, G0F-GN, G0, G0F+GN и/или G1F+GN или любую их комбинацию.

Сконструированные по остаткам цистеина варианты антител.

В некоторых вариантах осуществления может быть желательным создать сконструированные по остаткам цистеина антитела, например, "thioMAb", в которых один или более остатков антитела могут быть заменены остатками цистеина. В некоторых вариантах осуществления замененные остатки могут встречаться в доступных сайтах предусмотренных антител. Реакционноспособные тиольные группы могут располагаться в сайтах для конъюгации с другими фрагментами, такими как фрагменты лекарственных средств или фрагменты линкер-лекарственное средство, для получения иммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления любой один или более из следующих остатков можно заменять цистеином: V205 или эквивалентный остаток (нумерация согласно Kabat) легкой цепи; A118 или эквивалентный остаток (нумерация согласно Eu) тяжелой цепи и S400 или эквивалентный остаток (нумерация согласно Eu) Fc-области тяжелой цепи. Сконструированные по остаткам цистеина антитела можно получать, как описано (см., например, патент США № 7522541).

Производные антител.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, предусмотренное в настоящем документе, можно в дальнейшем модифицировать с возможностью содержания дополнительных небелковых фрагментов, которые известны в данной области и легкодоступны. Фрагменты, подходящие для дериватизации антитела, могут включать без ограничения водорастворимые полимеры. Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров могут включать без ограничения полиэтиленгликоль (PEG), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1,3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (гомополимеры или случайные сополимеры) и декстран или поли(н-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры полипропиленгликоля, сополимеры полипропиленоксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси. Полиэтиленгликольпропиональдегид может иметь преимущества при изготовлении по причине его стабильности в воде.

Полимер может иметь любой молекулярный вес и может быть разветвленным или неразветвленным. Количество полимеров, присоединенных к антителу, может варьироваться, и, если присоединены два или более полимеров, они могут быть одинаковыми или разными молекулами.

В некоторых вариантах осуществления предусмотрены конъюгаты антитела и небелкового фраг-

мента, которые могут быть избирательно нагреты путем облучения. В некоторых вариантах осуществления небелковый фрагмент может представлять собой углеродную нанотрубку (см., например, Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102: 11600-11605 (2005)). Излучение может характеризоваться любой длиной волны и может предусматривать без ограничения длины волн, которые не наносят вреда обычным клеткам, но которые обеспечивают нагревание небелкового фрагмента до температуры, при которой клетки, близко расположенные к антителу/ небелковому фрагменту, уничтожаются.

Рекомбинантные способы и композиции.

Средства на основе антител, антитела и их фрагменты можно получать с помощью рекомбинантных способов и композиций (см., например, патент США № 4816567). В некоторых вариантах осуществления может быть предусмотрена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая средство на основе антитела к LAG-3, описанное в настоящем документе. Такая нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность, содержащую V_L , и/или аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела. В дополнительном варианте осуществления могут быть предусмотрены один или более векторов, содержащих такую нуклеиновую кислоту. Вектор может представлять собой молекулу нуклеиновой кислоты, способную обеспечивать размножение другой нуклеиновой кислоты, с которой она связана. Термин может включать в себя вектор как самореплицирующуюся структуру на основе нуклеиновой кислоты, а также вектор, встроенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Определенные векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны.

В дополнительном варианте осуществления может быть предусмотрена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. Клетками-хозяевами могут быть клетки, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева могут включать в себя "трансформанты" и "трансформированные клетки", которые могут включать первичную трансформированную клетку и полученное от нее потомство, независимо от числа пассажей. Потомство может не быть полностью идентичным по составу нуклеиновой кислоты родительской клетке, но может содержать мутации. В настоящий документ включено мутантное потомство, которое обладает той же функцией или биологической активностью, в отношении которой была подвергнута скринингу или выбрана первоначально трансформированная клетка. В одном таком варианте осуществления клетка-хозяин может содержать (например, была трансформирована с его помощью) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела, или первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин может быть эукариотической, например клеткой яичника китайского хомячка (CHO) или лимфоидной клеткой (например, клеткой Y0, NS0, Sp20). В некоторых вариантах осуществления может быть предусмотрен способ получения антитела к LAG-3, где способ может включать культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, как указано выше, в условиях, подходящих для экспрессии антитела, и необязательно извлечение антитела из клетки-хозяина или среды для культивирования клетки-хозяина.

Для рекомбинантного получения средства на основе антитела к LAG-3 выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, например описанную выше, можно вставить в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такую нуклеиновую кислоту можно легко выделить и секвенировать с применением обычных процедур.

Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии кодирующих антитело векторов могут включать прокариотические или эукариотические клетки, описанные в настоящем документе. Например, средства на основе антитела могут продуцироваться в бактериях, например, если гликозилирование и эффекторная функция Fc не являются нужными (см., например, патенты США № 5648237, 5789199 и 5840523; Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248, pp. 245-254 (2003)). После экспрессии средство на основе антитела можно выделять из массы бактериальных клеток в растворимой фракции и можно дополнительно очищать.

В дополнение к прокариотам эукариотические микробы, такие как нитчатые грибы или дрожжи, могут быть подходящими клонирующими или экспрессирующими хозяевами для кодирующих антитела векторов (см., например, Gerngross, Nat. Biotech., 22:1409-1414 (2004) и Li et al., Nat. Biotech., 24:210-215 (2006)). Подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированного антитела также можно получать из многоклеточных организмов, включая беспозвоночных и позвоночных. Примеры беспозвоночных могут включать клетки растений и насекомых (см., например, патенты США № 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429). Примеры клеток позвоночных могут включать линии клеток млекопитающих, линию CV1 почки обезьяны, трансформированную с помощью SV40 (C0S-7); линию эмбриональной почки человека (клетки 293 или 293T, как описано, например, в Graham et al., J. Gen Virol., 36:59 (1977)); клетки почки детеныша хомяка (ВНК); клетки Сертоли мыши (клетки ТМ4); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK); клетки печени серой крысы линии Буффало (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); опухоль молочной железы мыши

(MMT 060562); клетки TR1; клетки MRC 5; клетки FS4; клетки яичника китайского хомячка (CHO), включая клетки DHFR-CHO, и клеточные линии миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. (См., например, Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248, pp. 255-268 (2003)).

Анализы.

Средства на основе антитела к LAG-3, предусмотренные в настоящем документе, можно идентифицировать, подвергнуть скринингу или охарактеризовать в отношении их физических/химических свойств и/или биологической активности с помощью различных анализов, известных в данной области.

В одном аспекте антитело по настоящему изобретению можно исследовать в отношении его антигенсвязывающей активности, например, с помощью ELISA, вестерн-блоттинга и т.д. В одном аспекте конкурентные анализы можно применять для идентификации антитела, которое конкурирует со средствами на основе антитела к LAG-3, описанными в настоящем документе, за связывание с LAG-3. В некоторых вариантах осуществления такое конкурирующее антитело связывается с тем же эпитопом (например, линейным или конформационным эпитопом), который связан средствами на основе антитела к LAG-3, описанными в настоящем документе. Иллюстративные способы картирования эпитопов известны (см., например, Morris "Epitope Mapping Protocols", *Methods in Molecular Biology*, vol. 66 (1996)).

В одном из примеров конкурентного анализа иммобилизованный LAG-3 можно инкубировать в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с LAG-3, и второе немеченое антитело, которое исследуется в отношении его способности конкурировать с первым антителом за связывание с LAG-3. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля иммобилизованный LAG-3 можно инкубировать в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не второе немеченое антитело. После инкубирования в условиях, обеспечивающих связывание первого антитела с LAG-3, можно удалять избыток несвязанного антитела и измерить количество метки, связанной с иммобилизованным LAG-3. Если количество метки, связанной с иммобилизованным LAG-3, существенно снижается в исследуемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это может указывать на то, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с LAG-3 (см., например, Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, ch. 14 (1996)).

В одном аспекте могут быть предусмотрены анализы для идентификации средств на основе антитела к LAG-3, обладающих биологической активностью. В некоторых вариантах осуществления могут быть предусмотрены анализы для идентификации средств на основе антитела к LAG-3, обладающих нейтрализующей активностью в отношении LAG-3. Средства на основе антител, обладающие такой биологической активностью *in vivo* и/или *in vitro*, также могут быть предусмотрены. В некоторых вариантах осуществления антитело по настоящему изобретению можно исследовать в отношении такой биологической активности.

"Биологическая активность" средства на основе антитела к LAG-3 или фрагмента может относиться, например, к аффинности связывания конкретного эпитопа LAG-3, нейтрализации или подавлению связывания LAG-3 с его рецептором(ами), нейтрализации или подавлению активности LAG-3 *in vivo* (например, IC₅₀), фармакокинетическим показателям и перекрестной реактивности (например, с гомологами или ортологами белка LAG-3, отличными от человеческих, или с другими белками или тканями). Другие биологические свойства или характеристики антигенсвязывающего средства, признанные в уровне техники, например могут включать avidность, селективность, растворимость, свернутость, иммунотоксичность, экспрессию и составление. Вышеупомянутые свойства или характеристики можно наблюдать, измерять и/или оценивать с применением стандартных методик, включая без ограничения ELISA, конкурентный ELISA, анализ поверхностного плазмонного резонанса (BIACORE™) или анализ кинетического исключения (KINEXA™), анализы нейтрализации *in vitro* или *in vivo*, анализы связывания рецептора с лигандом, анализы продуцирования и/или секреции цитокинов или факторов роста, а также анализ сигнальной трансдукции и иммуногистохимические анализы.

Иммуноконъюгаты.

В настоящем изобретении также предусмотрены иммуноконъюгаты, содержащие средство на основе антитела к LAG-3, предусмотренное в настоящем документе. Иммуноконъюгат может представлять собой антитело, конъюгированное с одной или более гетерологичными молекулами. Например, иммуноконъюгат может содержать антитело к LAG-3, конъюгированное с одним или более цитотоксическими средствами, такими как химиотерапевтические средства или лекарственные средства, средства, подавляющие рост, токсины (например, белковые токсины, ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения или их фрагменты) или радиоактивные изотопы.

В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат может представлять собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), в котором антитело конъюгировано с одним или более лекарственными средствами, включая без ограничения майтанзиноид; ауристин, такой как монометилауристиновые лекарственные фрагменты DE и DF (ММАЕ и ММАF); доластатин; калихеамицин или его производное; антрациклин, такой как дауномицин или доксорубин; метотрексат; виндезин; таксан, такой как доцетаксел, паклитаксел, ларотаксел, тезетаксел и ортатаксел; трихотецен и CC1065 (см., например, патенты США № 5208020, 5416064, 5635483, 5780588, 7498298, 5712374, 5714586, 5739116, 5767285,

5770701, 5770710, 5773001, 6630579 и 5877296; EP0425235B1; Hinman et al., *Cancer Res.*, 53:3336-3342 (1993); Lode et al., *Cancer Res.*, 58:2925-2928 (1998); Kratz et al., *Current Med. Chem.*, 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters*, 16:358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj. Chem.*, 16:717-721 (2005); Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters*, 12:1529-1532 (2002) и King et al., *J. Med. Chem.*, 45:4336-4343 (2002)).

В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат может содержать антитело, описанное в настоящем документе, конъюгированное с ферментативно активным токсином или его фрагментом, включая без ограничения дифтерийную цепь А, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, цепь А экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), цепь А рицина, цепь А абрина, цепь А модекцина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, белки диантина, белки *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор из *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор из *Saponaia officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктин, феномицин, эномицин и трихотецены.

В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат может содержать антитело, описанное в настоящем документе, конъюгированное с радиоактивным атомом с образованием радиоаконъюгата. Иллюстративные радиоактивные изотопы, доступные для получения радиоаконъюгатов, могут включать At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 и радиоактивные изотопы Lu. Радиоаконъюгат может содержать радиоактивный атом для сцинтиграфического обнаружения (например, tc99m или I123, или спиновую метку для ядерной магнитно-резонансной (NMR) томографии, такую как йод-123, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железа).

Конъюгаты на основе антитела и цитотоксического средства можно получать с применением бифункциональных белковых связующих средств, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат (SPDP), сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), имиотиолан (IT), бифункциональные производные имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (например, дисукцинимидилсуберат), альдегиды (например, глутаральдегид), бисазидосоединения (например, бис(п-азидобензоил)гександиамин), производные бис-дiazония (например, бис(п-дiazонийбензоил)-этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат) и биоактивные соединения фтора (например, 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Например, можно получать рициновый иммунотоксин (см., например, Vitetta et al., *Science*, 238:1098 (1987)). Меченная углеродом-14 1-изотиоцианатобензил-3-метилдиэтилентриаминпентауксусная кислота (MX-DTPA) представляет собой иллюстративное хелатирующее средство для конъюгации радионуклеотида с антителом (см., например, WO94/11026). Линкер может быть расщепляемым, облегчая высвобождение цитотоксического лекарственного средства в клетке. Иллюстративные расщепляемые линкеры могут включать в себя кислотонестойчивый линкер, пептидазочувствительный линкер, фотолabile линкер, диметилловый линкер и дисульфидсодержащий линкер (см., например, Chari et al., *Cancer Res.*, 52:127-131 (1992); патент США № 5208020).

В настоящем документе иммуноконъюгаты или ADC явно предусматривают конъюгаты, полученные с применением сшивающих реагентов. Иллюстративные сшивающие реагенты могут включать BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS сульфо-SIAB, сульфо-SMCC и сульфо-SMPB и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат).

Способы и композиции для диагностики и обнаружения.

В некоторых вариантах осуществления любое из средств на основе антитела к LAG-3, предусмотренных в настоящем документе, может быть применимым для обнаружения присутствия LAG-3 в биологическом образце. Обнаружение может включать количественное или качественное обнаружение.

Средства на основе антитела и композиции, раскрытые в настоящем документе, можно применять для различных целей, таких как отслеживание уровня белка LAG-3 у субъекта, исследуемого на предмет наличия заболевания или нарушения, которое чувствительно к подавлению LAG-3. Эти способы могут включать приведение в контакт образца от субъекта, у которого диагностировано такое заболевание или нарушение, с антителом, описанным в настоящем документе, и обнаружение связывания антитела с образцом. В некоторых вариантах осуществления способы могут дополнительно включать приведение в контакт второго антитела, которое связывает LAG-3, с образцом, и обнаружение связывания второго антитела. В некоторых вариантах осуществления способы могут дополнительно включать приведение в контакт второго средства на основе антитела, которое специфически распознает средство на основе антитела к LAG-3, с образцом и обнаружение связывания второго средства на основе антитела.

В соответствии с другим вариантом осуществления в настоящем изобретении предусмотрены способы диагностики. Способы диагностики обычно включают в себя приведение в контакт полученного от пациента биологического образца, такого как, например, кровь, сыворотка крови, слюна, моча, мокрота, образец клеток буккального мазка или биопсия ткани, со средством на основе антитела к LAG-3 и определение, связывается ли средство на основе антитела преимущественно с образцом по сравнению с контрольным образцом или с заданным пороговым значением, что указывает таким образом на присутствие LAG-3. В связи с этим средство на основе антитела к LAG-3 можно применять в способе диагностики нарушения или заболевания, при которых неадекватная экспрессия (например, сверхэкспрессия) или по-

вышенная активность LAG-3 вызывает или вносит вклад в патологические эффекты заболевания или нарушения. Аналогичным образом, средство на основе антитела к LAG-3 можно применять в анализе для отслеживания уровней белка LAG-3 у субъекта, исследуемого на предмет наличия заболевания или нарушения, которое чувствительно к подавлению LAG-3. Пути исследовательского применения предусматривают, например, способы, в которых используется средство на основе антитела к LAG-3 и метка для выявления белка LAG-3 в образце, например, крови, сыворотки крови, слюны, мочи, мокроты, образца клеток буккального мазка или биопсии ткани. Средство на основе антитела к LAG-3 можно применять в немодифицированном или модифицированном виде, например, при ковалентном или нековалентном мечении выявляемым фрагментом. Например, выявляемым фрагментом может быть радиоизотоп (например, ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{125}I или ^{131}I), флуоресцентное или хемилюминесцентное соединение (например, флуоресцеин-изотиоцианат, родамин или люциферин), фермент (например, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза или пероксидаза хрена) или простетические группы. В контексте настоящего изобретения можно применять любой известный из уровня техники способ отдельного конъюгирования антигенсвязывающего средства (например, антитела) с выявляемым фрагментом (см., например, Hunter et al., *Nature*, 194: 495-496 (1962); David et al., *Biochemistry*, 13: 10144021 (1974); Pain et al., *J Immunol. Metk*, 40: 219-230 (1981) и Nygren, J., *Histochem. and Cytochem.*, 30: 407-412 (1982)).

Уровни белка LAG-3 можно измерять с применением раскрытых средств на основе антитела к LAG-3 с помощью любого подходящего способа, известного в данной области. Такие способы могут включать, например, радиоиммунологический анализ (RIA) и FACS. Нормальные или стандартные значения экспрессии LAG-3 можно установить с применением любой подходящей методики, например, путем объединения образца, содержащего или предположительно содержащего LAG-3, со средством на основе антитела, специфического в отношении LAG-3, в условиях, подходящих для образования комплекса антиген-средство на основе антитела. Средство на основе антитела можно прямым или косвенным способом пометить выявляемым веществом для облегчения выявления связанного или несвязанного антитела. Подходящие выявляемые вещества включают различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы и радиоактивные материалы (см., например, Zola. *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*, CRC Press, inc. (1987)). Количество полипептида LAG-3, экспрессируемого в образце, затем сравнивают со стандартным значением.

Средства на основе антитела к LAG-3 могут обеспечиваться в наборе, т.е. упакованной комбинации реагентов в предварительно определенных количествах с инструкциями по проведению диагностического анализа. Если средство на основе антитела к LAG-3 помечено ферментом, то набор предпочтительно может содержать субстраты и кофакторы, необходимые для фермента (например, предшественник субстрата, который обеспечивает выявляемый хромофор или флуорофор). Кроме того, в набор могут быть включены и другие добавки, такие как стабилизаторы, буферы (например, блокирующий буфер или буфер для лизиса) и т. п. Относительные количества различных реагентов могут варьироваться для обеспечения в растворе концентраций реагентов, которые в значительной степени оптимизируют чувствительность анализа. Реагенты могут обеспечиваться в виде сухих порошков (обычно лиофилизированных), и наборы включают вспомогательные вещества, которые после растворения могут обеспечивать раствор реагента, имеющий соответствующую концентрацию.

Фармацевтические составы.

В настоящем изобретении также предусмотрены фармацевтические составы (например, фармацевтически приемлемая композиция), содержащие одно или более предусмотренных средств на основе антитела к LAG-3, описанных в настоящем документе.

В вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает любое средство, описанное в настоящем документе. Такие фармацевтические композиции необязательно могут включать и/или вводиться в комбинации с одним или более дополнительными терапевтически активными веществами (например, ингибитором контрольной точки или противораковым средством, таким как нирапариб). В некоторых вариантах осуществления предусмотренные фармацевтические композиции полезны в медицине. В некоторых вариантах осуществления предусмотренные фармацевтические композиции применимы в качестве профилактических средств (т.е. вакцин) при лечении или профилактике заболеваний и нарушений, таких как описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления предусмотренные фармацевтические композиции применимы в путях терапевтического применения, например, у людей, страдающих от заболеваний и нарушений, таких как описанные в настоящем документе, или восприимчивых к ним.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены для введения людям. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены для введения млекопитающим, отличным от человека (например, подходят для применения в ветеринарии).

Фармацевтические составы средства на основе антитела к LAG-3, описанного в настоящем документе, можно получить путем смешивания такого антитела, имеющего желаемую степень чистоты, с одним или более необязательными фармацевтически приемлемыми носителями (см., например, Remington's *Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) в форме лиофилизированных составов или водных растворов.

Фармацевтически приемлемые носители обычно нетоксичны для реципиентов при используемых дозировках и концентрациях. Иллюстративные фармацевтически приемлемые носители могут включать буферы (например, фосфатный, цитратный и других органических кислот); антиоксиданты (например, аскорбиновую кислоту и метионин); консерванты (например, хлорид октадецилдиметилбензиламмония); хлорид гексаметония; хлорид бензалкония; хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиновый спирт; алкилпарабены (например, метил- или пропилпарабен); катехин; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол и м-крезол; низкомолекулярные (менее чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, (например, сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины); гидрофильные полимеры (например, поливинилпирролидон); аминокислоты (например, глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин); моносахариды, дисахариды и другие углеводы (например, глюкозу, маннозу или декстрины); хелатирующие средства (например, EDTA); сахара (например, сахарозу, маннит, трегалозу или сорбит); солеобразующие противоионы (например, натрий); комплексы металлов (например, Zn-белковые комплексы) и/или неионные поверхностно-активные вещества (например, полиэтиленгликоль (PEG)). Иллюстративные фармацевтически приемлемые носители в настоящем документе могут дополнительно включать средства диспергирования лекарственного средства в межклеточном пространстве (например, растворимые гликопротеины гиалуронидазы с нейтральной активностью (sHASEGP)) (см., например, заявки на патент США № US 2005/0260186 и US 2006/0104968). В одном аспекте sHASEGP можно объединять с одной или более дополнительными гликозаминогликаназами (например, хондроитиназами).

В некоторых вариантах осуществления предусмотренные фармацевтические композиции содержат одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ (например, консервант, инертный разбавитель, диспергирующее средство, поверхностно-активное средство и/или эмульгатор, буферное средство и т.д.). В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат один или более консервантов. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции не содержат консерванта. В Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A.R. Gennaro, (Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006) раскрываются различные вспомогательные вещества, применяемые при составлении фармацевтических композиций, и известные методы их получения. За исключением тех случаев, когда какая-либо обычная вспомогательная среда несовместима с веществом или его производными, например, из-за какого-либо нежелательного биологического эффекта или иным образом вредного взаимодействия с любым другим компонентом (компонентами) фармацевтической композиции, предполагается, что ее применение находится в пределах объема настоящего изобретения.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предусмотрены в форме, которая может быть охлаждена и/или заморожена. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предусмотрены в форме, которая не может быть охлаждена и/или заморожена. В некоторых вариантах осуществления состав средства на основе антитела может быть лиофилизирован (см., например, патент США № 6267958). Составы средства на основе антитела могут быть водными (см., например, патент США № 6171586 и WO 06/044908). В некоторых вариантах осуществления восстановленные растворы и/или жидкие лекарственные формы можно хранить в течение определенного периода времени после восстановления (например, 2, 12, 24 ч, 2, 5, 7, 10 дней, 2 недели, 1, 2 месяца или дольше). В некоторых вариантах осуществления хранения композиций на основе антитела в течение более длительного времени, чем указано, приводит к разрушению молекул.

Жидкие лекарственные формы и/или восстановленные растворы могут предусматривать твердые частицы и/или обесцвечивание перед введением. В некоторых вариантах осуществления раствор не следует использовать, если он обесцвечен или мутный и/или если после фильтрации остаются твердые частицы.

Состав в настоящем документе также может содержать более одного активного ингредиента, если необходимо для конкретного показания, подлежащего лечению (например, рака).

Активные ингредиенты могут быть заключены в микрокапсулы (например, гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и поли(метилметакрилат)). Активные ингредиенты могут быть заключены в микрокапсулы в коллоидных системах доставки лекарственных средств (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и микрокапсулы) или в макроэмульсии. Можно получать препараты с замедленным высвобождением. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением могут включать полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащих антитело, причем эти матрицы имеют форму формованных изделий (например, пленок или микрокапсул). Составы, применяемые для введения *in vivo*, обычно могут быть стерильными (например, путем фильтрации через мембраны для стерилизующей фильтрации).

Например, фармацевтические композиции, предусмотренные в настоящем документе, могут быть представлены в стерильной форме для инъекций (например, в форме, которая подходит для подкожной инъекции или внутривенной инфузии). Например, в некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предусмотрены в жидкой лекарственной форме, которая подходит для инъекции. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предусмотрены в виде порошков (например, лиофилизированных и/или стерилизованных), необязательно под вакуумом, которые восстанавливают водным разбавителем (например, водой, буфером, солевым раствором и т.д.) перед инъекци-

ей. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции разбавляют и/или восстанавливают в воде, растворе хлорида натрия, растворе ацетата натрия, растворе бензилового спирта, фосфатно-буферном солевом растворе и т.д. В некоторых вариантах осуществления порошок следует осторожно смешивать с водным разбавителем (например, не взбалтывать).

Составы фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе, можно получить любым способом, известным или в дальнейшем разработанным в области фармакологии. В некоторых вариантах осуществления такие способы получения включают стадию объединения активного ингредиента с одним или более вспомогательными веществами и/или одним или более другими вспомогательными ингредиентами, а затем, если необходимо и/или желательно, формования и/или упаковки продукта в желаемую единицу дозы для однократного или многократного применения.

Фармацевтическую композицию в соответствии с настоящим изобретением можно получить, упаковать и/или продать без упаковки в виде одной единичной стандартной дозы и/или в виде множества единичных стандартных доз. Используемый в настоящем документе термин "стандартная доза" представляет собой дискретное количество фармацевтической композиции, содержащее заданное количество активного ингредиента. Количество активного ингредиента обычно равняется дозе, которую вводят субъекту, и/или удобной доле такой дозы, как, например, половина или одна треть такой дозы.

Относительные количества активного ингредиента, фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества и/или любых дополнительных ингредиентов в фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением могут варьироваться в зависимости от индивидуальных особенностей, размера и/или состояния субъекта, подвергаемого лечению, и/или в зависимости от пути, которым подлежит введению композиция. Например, композиция может содержать от 0,1 до 100% (вес./вес.) активного ингредиента.

Фармацевтическую композицию можно вводить млекопитающему с применением стандартных методов введения, включая пероральное, внутривенное, интраперитонеальное, подкожное, легочное, трансдермальное, внутримышечное, интраназальное, буккальное, подъязычное введение или введение с помощью суппозитория. Композиция может подходить для парентерального введения. Используемый в настоящем документе термин "парентеральное" предусматривает внутривенное, внутримышечное, подкожное, ректальное, вагинальное и интраперитонеальное введение. В вариантах осуществления композицию вводят млекопитающему с применением периферической системной доставки за счет внутривенной, интраперитонеальной или подкожной инъекции.

Терапевтические способы.

В настоящем изобретении также предусмотрены способы и композиции применения средства, воздействующего на LAG-3 (например, средства, которое способно подавлять передачу сигнала с участием LAG-3, такого как раскрытые средства на основе антител), для лечения заболевания или нарушения. В настоящем изобретении предусмотрена композиция, содержащая эффективное количество средства, воздействующего на LAG-3 (например, средства, которое способно подавлять передачу сигнала с участием LAG-3). В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой раскрытый полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, раскрытый полипептид легкой цепи иммуноглобулина, раскрытые средства на основе антитела к LAG-3, раскрытую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любое из указанного выше, или раскрытый вектор, содержащий раскрытую последовательность нуклеиновой кислоты.

Как описано в настоящем документе, композиция может представлять собой фармацевтически приемлемую (например, физиологически приемлемую) композицию, которая содержит носитель, например фармацевтически приемлемый (например, физиологически приемлемый) носитель, и раскрытые аминокислотные последовательности, антигенсвязывающее средство или вектор. Любой подходящий носитель можно использовать в контексте настоящего изобретения, и такие носители хорошо известны в данной области техники. Выбор носителя частично может определяться конкретным участком, в который может быть введена композиция, и конкретным способом введения композиции. Необязательно композиция может быть стерильной. Композиция может быть заморожена или лиофилизована для хранения и восстановлена с помощью подходящего стерильного носителя перед применением. Композиции могут быть получены в соответствии с традиционными методиками, описанными, например, в Remington; The Science and Practice of Pharmacy. 21st Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2001).

В вариантах осуществления введение средства, описанного в настоящем документе, приводит к терапевтическому эффекту (например, желаемому фармакологическому и/или физиологическому эффекту). Терапевтический эффект может включать частичное или полное излечение заболевания, ослабление одного или более неблагоприятных симптомов, связанных с заболеванием, и/или задержку прогрессирования заболевания. В связи с этим, способ по настоящему изобретению предусматривает введение "терапевтически эффективного количества" связывающего LAG-3 средства. "Терапевтически эффективное количество" может представлять собой количество, эффективное в дозах и в течение необходимых периодов времени в достижении требуемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от таких факторов, как стадия заболевания, возраст, пол и масса индивидуума, а также способность связывающего средства вызывать требуемый ответ у индиви-

дуума. Например, терапевтически эффективное количество связывающего средства по настоящему изобретению представляет собой количество, которое обеспечивает снижение биоактивности LAG-3 у человека.

Альтернативно, фармакологический и/или физиологический эффект может быть профилактическим, т.е. эффект полностью или частично предупреждает заболевание или его симптом (например, задержку начала проявления или замедление прогрессирования заболевания или его симптома). В связи с этим способ по настоящему изобретению предусматривает введение "профилактически эффективного количества" связывающего средства. "Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение необходимых периодов времени в достижении требуемого профилактического результата.

Таким образом, в настоящем изобретении дополнительно предусмотрен способ лечения нарушения у млекопитающего, которое чувствительно к подавлению LAG-3. Способ может включать введение вышеупомянутой композиции млекопитающему, имеющему нарушение, которое чувствительно к подавлению LAG-3, за счет чего осуществляется лечение нарушения у млекопитающего. Нарушение, которое "реагирует на подавление LAG-3" может относиться к любому заболеванию или нарушению, при котором снижение уровней или активности LAG-3 приводит к терапевтической пользе у млекопитающих, например, человека, или неадекватная экспрессия (например, сверхэкспрессия) или повышенная активность LAG-3 вызывает или вносит вклад в патологические эффекты заболевания или нарушения.

В варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ усиления иммунного ответа у млекопитающего или лечения или предотвращения заболевания или нарушения у млекопитающего, которое чувствительно к подавлению или нейтрализации LAG-3, причем этот способ включает введение млекопитающему, нуждающемуся в этом, связывающего LAG-3 средства или фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе, вследствие чего иммунный ответ у млекопитающего усиливается или осуществляется лечение заболевания или нарушения у млекопитающего. Иммунный ответ усиливается, например, путем усиления антигенспецифической Т-эффекторной функции. Антиген может представлять собой вирусный (например, HIV), бактериальный, паразитарный или опухолевый антиген (например, любой антиген, описанный в настоящем документе). В вариантах осуществления иммунный ответ представляет собой природный иммунный ответ. Под природным иммунным ответом подразумевается иммунный ответ, который является результатом инфекции. В вариантах осуществления инфекция представляет собой хроническую инфекцию. В вариантах осуществления инфекция представляет собой острую инфекцию.

Повышение или усиление иммунного ответа в отношении антигена можно измерять с помощью ряда способов, известных в данной области. Например, иммунный ответ можно измерить путем измерения любого из следующих: активность Т-клеток, пролиферация Т-клеток, активация Т-клеток, продуцирование эффекторных цитокинов и профиль транскрипции Т-клеток. В вариантах осуществления иммунный ответ представляет собой ответ, индуцированный вследствие вакцинации. Соответственно, в другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ повышения эффективности вакцины путем введения субъекту моноклонального антитела или scFv-антитела по настоящему изобретению и вакцины. Антитело и вакцину вводят последовательно или одновременно. Вакцина представляет собой противоопухолевую вакцину, бактериальную вакцину или вирусную вакцину.

В вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, применимы для повышения активации Т-клеток или эффекторной функции Т-клеток у субъекта.

В вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, применимы для индуцирования иммунного ответа у субъекта.

В вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, применимы для усиления иммунного ответа или повышения активности иммунной клетки у субъекта.

В вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, применимы для лечения Т-клеточных дисфункциональных нарушений (например, рака).

В вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, применимы для уменьшения опухолей или подавления роста опухолевых клеток у субъекта.

Таким образом, способ по настоящему изобретению можно применять для лечения любого типа инфекционного заболевания (т.е. заболевания или нарушения, вызываемого бактерией, вирусом, грибом или паразитом). Примеры инфекционных заболеваний, которые можно лечить посредством способа по настоящему изобретению, включают без ограничения заболевание, вызываемое вирусом иммунодефицита человека (HIV), респираторно-синцитиальным вирусом (RSV), вирусом гриппа, вирусом денге, вирусом гепатита В (HBV) или вирусом гепатита С (HCV). Если способ по настоящему изобретению применяют для лечения инфекционного заболевания, то средство на основе антитела можно вводить в комбинации с по меньшей мере одним противобактериальным средством или по меньшей мере одним противовирусным средством. При этом противобактериальным средством может быть любой подходящий антибиотик, известный из уровня техники. Противовирусным средством может быть любая вакцина любого подходящего типа, которая специфически нацеливается на конкретный вирус (например, живые аттенуированные вакцины, субъединичные вакцины, рекомбинантные векторные вакцины) и низкомоле-

кулярные противовирусные терапевтические средства (например, ингибиторы вирусной репликации и аналоги нуклеозидов).

В вариантах осуществления способы по настоящему изобретению можно применять для лечения любого типа аутоиммунного заболевания (т.е. заболевания или нарушения, вызванного чрезмерной активностью иммунной системы, при котором организм атакует и повреждает свои собственные ткани), такого как заболевания, описанные, например, в MacKay I.R. and Rose N.R., eds., *The Autoimmune Diseases, Fifth Edition*, Academic Press, Waltham, MA (2014). Примеры аутоиммунных заболеваний, которые можно лечить посредством способа по настоящему изобретению, включают без ограничения рассеянный склероз, сахарный диабет 1 типа, ревматоидный артрит, склеродермию, болезнь Крона, псориаз, системную красную волчанку (SLE) и язвенный колит. Когда способ по настоящему изобретению применяют для лечения аутоиммунного заболевания, то средство на основе антитела, описанное в настоящем документе, можно применять в комбинации с противовоспалительным средством, включая, например, кортикостероиды (например, преднизон и флутиказон) и нестероидные противовоспалительные средства (NSAID) (например, аспирин, ибупрофен и напроксен).

Другие иллюстративные нарушения, которые чувствительны к подавлению LAG-3, могут включать, например, рак.

Соответственно, в одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрены способы предотвращения, лечения или облегчения клеточно-пролиферативного заболевания или нарушения или симптома указанного заболевания или нарушения у субъекта (например, субъекта, страдающего раком или клеточно-пролиферативным заболеванием или нарушением, или субъекта, подверженного риску развития рака или клеточно-пролиферативного заболевания или нарушения). Субъектами, подверженными риску развития заболеваний или нарушений, связанных с пролиферацией клеток, являются пациенты, у которых в семейном анамнезе был рак, или субъект, подвергшийся воздействию известного или предположительно вызывающего рак средства. Введение профилактического средства можно осуществлять до проявления заболевания или нарушения, за счет чего оно предотвращается или, альтернативно, обеспечивается поддержка в его прогрессировании.

Способ в соответствии с настоящим изобретением можно применять для лечения любого типа рака, известного в уровне техники.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак на поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак II стадии, III стадии или IV стадии. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак II стадии. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак III стадии. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак IV стадии.

В вариантах осуществления рак представляет собой метастатический рак.

В вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, применимы для уменьшения опухолей или подавления роста опухолевых клеток у субъекта.

В вариантах осуществления рак представляет собой рецидивирующий рак.

Виды рака, которые можно лечить с помощью способов, описанных в данном документе, включают рак, связанный с высокой мутационной нагрузкой опухоли (TMB), виды рака, которые являются микросателлитно-стабильными (MSS), виды рака, которые характеризуются микросателлитной нестабильностью, виды рака, которые имеют статус высокой микросателлитной нестабильности (MSI-H), виды рака, которые имеют статус низкой микросателлитной нестабильности (MSI-L), виды рака, связанные с высокой TMB и MSI-H (например, виды рака, связанные с высокой TMB и являющиеся MSI-L или MSS), виды рака, характеризующиеся недостаточностью системы репарации при ошибочном спаривании ДНК, виды рака, имеющие дефект в гене репарации ошибочного спаривания ДНК, гипермутированные виды рака, виды рака, имеющие дефицит репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицит гомологичной репарации ("HRD") или характеризуются мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR), виды рака, содержащие мутацию в полимеразе-дельта (POLD), а также виды рака, содержащие мутацию в полимеразе-эпсилон (POLE). В вариантах осуществления рак представляет собой рак, характеризующийся мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR), мутацией в пути репарации повреждений ДНК (DDR), дефицитом BRCA, мутацией изоцитратдегидрогеназы (IDH) и/или хромосомной транслокацией. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гипермутированную форму рака, рак MSI-H, рак MSI-L или рак MSS. В вариантах осуществления рак характеризуется одной или более из этих характеристик.

В некоторых вариантах осуществления опухоль, подлежащая лечению, характеризуется микросателлитной нестабильностью. В некоторых вариантах осуществления опухоль характеризуется статусом высокой микросателлитной нестабильности (MSI-H). Микросателлитная нестабильность ("MSI") представляет собой или предусматривает изменение в ДНК определенных клеток (таких как опухолевые клетки), при котором число повторов микросателлитов (коротких повторяющихся последовательностей ДНК) отличается от числа повторов, которые содержались в ДНК, из которой она произошла. Приблизительно 15% спорадических колоректальных разновидностей рака (CRC) содержат широко распространенные изменения длины микросателлитных (MS) последовательностей, известные как микросателлит-

ная нестабильность (MSI) (Boland and Goel, 2010). Спорадические опухоли CRC MSI демонстрируют уникальные клинико-патологические особенности, в том числе почти диплоидный кариотип, более высокая частота в популяциях более старшего возраста и у женщин и лучший прогноз (de la Chapelle and Hampel, 2010; Popat et al., 2005). MSI также присутствует в других опухолях, таких как рак эндометрия (EC) матки, наиболее распространенная гинекологическое злокачественное новообразование (Duggan et al., 1994). Одна и та же эталонная панель Bethesda, первоначально разработанная для скрининга наследственного генетического нарушения (синдрома Линча) (Umar et al., 2004), в настоящее время применяется для тестирования MSI при CRC и EC. Тем не менее, гены, которые часто служат мишенью MSI в геномах CRC, редко предусматривают события проскальзывания ДНК в геномах EC (Gurin et al., 1999).

Микросателлитная нестабильность возникает вследствие неспособности исправить ошибки, связанные с репликацией, из-за дефектной системы репарации ошибочного спаривания (MMR) ДНК. Такая неспособность обеспечивает возможность сохранения мутаций ошибочного спаривания по всему геному, но особенно в областях повторяющейся ДНК, известных как микросателлиты, что приводит к увеличению мутационной нагрузки. Было продемонстрировано, что по меньшей мере некоторые опухоли, для которых характерна MSI-H, проявляют улучшенные ответы на определенные средства, воздействующего на PD-1 (Le et al., (2015) *N. Engl. J. Med.* 372(26):2509-2520; Westdorp et al., (2016) *Cancer Immunol. Immunother.* 65(10): 1249-1259). В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется микросателлитной нестабильностью, представляющей собой высокую микросателлитную нестабильность (например, статусом MSI-H). В некоторых вариантах осуществления рак имеет статус микросателлитной нестабильности, представляющей собой низкую микросателлитную нестабильность (например, MSI-Low). В некоторых вариантах осуществления рак имеет статус микросателлитной нестабильности как микросателлитно-стабильного (например, статус MSS). В некоторых вариантах осуществления статус микросателлитной нестабильности оценивают с помощью анализа на основе секвенирования нового поколения (NGS), анализа на основе иммуногистохимии (ИHC) и/или анализа на основе ПЦР. В некоторых вариантах осуществления микросателлитную нестабильность выявляют с помощью NGS. В некоторых вариантах осуществления микросателлитную нестабильность выявляют с помощью ИHC. В некоторых вариантах осуществления микросателлитную нестабильность выявляют с помощью ПЦР.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак MSI-L.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак MSI-H. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль MSI-H. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой рак эндометрия MSI-H. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой солидную опухоль. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой метастатическую опухоль. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой рак эндометрия. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой неэндометриальный рак. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой колоректальный рак.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак MSS. В вариантах осуществления рак MSS представляет собой рак эндометрия MSS.

В вариантах осуществления рак ассоциирован с мутацией POLE (ДНК-полимеразы-эпсилон) (т.е. рак представляет собой POLE-мутантный рак). В вариантах осуществления мутация POLE представляет собой мутацию в экзонуклеазном домене. В вариантах осуществления мутация POLE представляет собой генеративную мутацию. В вариантах осуществления мутация POLE представляет собой спорадическую мутацию. В вариантах осуществления рак MSI также ассоциирован с мутацией POLE. В вариантах осуществления рак MSS также ассоциирован с мутацией POLE. В вариантах осуществления мутацию POLE идентифицируют с применением секвенирования. В вариантах осуществления POLE-мутантный рак представляет собой рак эндометрия. В вариантах осуществления POLE-мутантный рак представляет собой рак толстой кишки. В вариантах осуществления POLE-мутантный рак представляет собой рак поджелудочной железы, рак яичника или рак тонкого кишечника.

В вариантах осуществления рак ассоциирован с мутацией POLD (ДНК-полимеразы-дельта) (т.е. рак представляет собой POLD-мутантный рак). В вариантах осуществления мутация POLD представляет собой мутацию в экзонуклеазном домене. В вариантах осуществления мутация POLD представляет собой соматическую мутацию. В вариантах осуществления мутация POLD представляет собой генеративную мутацию. В вариантах осуществления POLD-мутантный рак идентифицируют с применением секвенирования. В вариантах осуществления POLD-мутантный рак представляет собой рак эндометрия. В вариантах осуществления POLD-мутантный рак представляет собой колоректальный рак. В вариантах осуществления POLD-мутантный рак представляет собой рак головного мозга.

В вариантах осуществления рак имеет дефектную систему репарации ошибочного спаривания ДНК (например, представляет собой рак с дефицитом репарации ошибочного спаривания (MMRd)). В вариантах осуществления рак характеризуется дефектом в гене репарации ошибочного спаривания ДНК. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак с дефицитом репарации ошибочного спаривания.

В вариантах осуществления рак MMRd представляет собой колоректальный рак.

В вариантах осуществления рак представляет собой гипермутированный рак.

В вариантах осуществления рак имеет дефицит репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицит гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления рак (например, рак MMRd) характеризуется высокой мутационной нагрузкой опухоли (т.е. рак представляет собой рак с высокой TMB). В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован с высокой TMB и MSI-H. В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован с высокой TMB и MSI-L или MSS. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак эндометрия, ассоциированный с высокой TMB. В некоторых родственных вариантах осуществления рак эндометрия ассоциирован с высокой TMB и MSI-H. В некоторых родственных вариантах осуществления рак эндометрия ассоциирован с высокой TMB и MSI-L или MSS. В вариантах осуществления рак с высокой TMB представляет собой колоректальный рак. В вариантах осуществления рак с высокой TMB представляет собой рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого (SCLC) или немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), такой как плоскоклеточный NSCLC или неплоскоклеточный NSCLC). В вариантах осуществления рак с высокой TMB представляет собой меланому. В вариантах осуществления рак с высокой TMB представляет собой уротелиальный рак.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак с повышенной экспрессией инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), т.е. у пациента имеется рак с высоким содержанием TIL. В вариантах осуществления рак с высоким содержанием TIL представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC) или HER2-позитивный рак молочной железы). В вариантах осуществления рак с высоким содержанием TIL представляет собой метастатический рак (например, метастатический рак молочной железы).

Неограничивающие примеры видов рака, подлежащих лечению с помощью способов по настоящему изобретению, могут включать меланому (например, метастатическую злокачественную меланому), рак почки (например, светлоклеточный рак), рак предстательной железы (например, гормонорезистентную аденокарциному предстательной железы), аденокарциному поджелудочной железы, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого), рак пищевода, рак головы и шеи, плоскоклеточный рак, рак печени, рак яичника, рак шейки матки, рак щитовидной железы, глиобластома, глиому, лейкоз, лимфому, мезотелиому, саркому и другие злокачественные новообразования. Кроме того, настоящее изобретение включает рефрактерные или рецидивирующие злокачественные новообразования, рост которых можно подавлять с применением способов по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления рак, подлежащий лечению с помощью способов по настоящему изобретению, включает, например, карциному, плоскоклеточную карциному (например, цервикального канала, века, соединительной оболочки, влагалища, легкого, полости рта, кожи, мочевого пузыря, головы и шеи, языка, гортани и пищевода) и аденокарциному (например, предстательной железы, тонкого кишечника, эндометрия, цервикального канала, толстого кишечника, легкого, поджелудочной железы, пищевода, кишечника, прямой кишки, матки, желудка, молочной железы и яичника). В некоторых вариантах осуществления рак, подлежащий лечению с помощью способов по настоящему изобретению, дополнительно включает саркомы (например, миогенную саркому), лейкоз, неврому, меланому и лимфому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому, почечноклеточную карциному, рак легкого, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак желчного пузыря, рак гортани, рак печени, рак щитовидной железы, рак желудка, рак слюнной железы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы или карциному из клеток Меркеля (см., например, Bhatia et al, *Curr. Oncol. Rep.*, 13(6): 488-497 (2011)).

В вариантах осуществления рак представляет собой острый миелоидный лейкоз ("AML"), острый лимфобластный лейкоз ("ALL"), аденокарциному, аденокарциному легкого, адренкортикальную карциному, рак ануса (например, плоскоклеточный рак ануса), рак аппендикса, В-клеточный лейкоз, В-клеточную лимфому, рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC) или рак молочной железы, отличный от трижды негативного), рак фаллопиевой трубы(труб), рак яичек, церебральный рак, рак шейки матки (например, плоскоклеточный рак шейки матки), холангиокарциному, хориокарциному, хронический миелогенный лейкоз, опухоль CNS, рак толстой кишки или колоректальный рак (например, аденокарциному толстой кишки), диффузную глиому ствола головного мозга (DIPG), диффузную В-крупноклеточную лимфому ("DLBCL"), эмбриональную рабдомиосаркому (ERMS), рак эндометрия, эпителиальный рак, рак пищевода (например, плоскоклеточный рак пищевода), саркому Юинга, рак глаза (например, увеальную меланому), фолликулярную лимфому ("FL"), рак желчного пузыря, рак желудка, рак желудочно-кишечного тракта, мультиформную глиобластома, глиому (например, высокодифференцированную глиому), рак головы и шеи (например, плоскоклеточный рак головы и шеи (SCHNC)), гематологический рак, почечноклеточный рак, лимфому Ходжкина (HL)/первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, рак почки (например, светлоклеточный рак почки, папиллярный рак почки, хромофобный почечноклеточный рак), В-крупноклеточную лимфому, рак гортани, лейкоз, рак печени, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого или плоскоклеточный рак легкого), лимфому, меланому, карциному из клеток Меркеля, мезотелиому, моноцитарный лей-

коз, множественную миелому, миелому, нейробластическую опухоль CNS (например, нейробластому (NB)), неходжкинскую лимфому (NHL), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), рак ротовой полости, остеосаркому, рак яичника, карциному яичника, рак поджелудочной железы, рак брюшины, феохромоцитому, первичный рак брюшины, рак предстательной железы, рецидивную или рефрактерную классическую лимфому Ходжкина (сHL), рак почки (например, почечноклеточный рак), карциному прямой кишки (карциному прямой кишки), рак слюнной железы (например, опухоль слюнной железы), саркому, рак кожи, мелкоклеточный рак легкого, рак тонкой кишки, плоскоклеточный рак полового члена, саркому мягких тканей, плоскоклеточный рак пищевода, плоскоклеточный рак головы и шеи (SCHNC), плоскоклеточный рак легкого, рак желудка, Т-клеточный лейкоз, Т-клеточную лимфому, опухоль яичка, рак тимуса, тимому, карциному щитовидной железы (карциному щитовидной железы), увеальную меланому, уротелиальную карциному, рак матки (например, рак эндометрия матки или саркому матки, такую как карциносаркома матки), рак влагалища (например, плоскоклеточный рак влагалища), рак вульвы (например, плоскоклеточный рак вульвы) или опухоль Вильмса.

В вариантах осуществления рак представляет собой аденокарциному, рак эндометрия, рак молочной железы, рак яичника, рак шейки матки, рак фаллопиевой трубы, рак яичка, первичный рак брюшины, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак желудка, рак тонкого кишечника, плоскоклеточную карциному ануса, плоскоклеточную карциному полового члена, плоскоклеточную карциному шейки матки, плоскоклеточную карциному влагалища, плоскоклеточную карциному вульвы, саркому мягких тканей, меланому, почечноклеточную карциному, рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак желудка, рак мочевого пузыря, рак желчного пузыря, рак печени, рак щитовидной железы, рак гортани, рак слюнной железы, рак пищевода, рак головы и шеи, плоскоклеточную карциному головы и шеи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, мезотелиому, карциному из клеток Меркеля, саркому, глиобластому, гематологический рак, множественную миелому, В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина/первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, хронический миелогенный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, неходжкинскую лимфому, нейробластому, опухоль CNS, диффузную глиому ствола головного мозга (DIPG), саркому Юинга, эмбриональную рабдомиосаркому, остеосаркому или опухоль Вильмса. В вариантах осуществления рак является MSS или MSI-L, характеризуется микросателлитной нестабильностью, является MSI-H, имеет высокую TMB, имеет высокую TMB и является MSS или MSI-L, имеет высокую TMB и является MSI-H, имеет дефектную систему репарации ошибочного спаривания ДНК, имеет дефект в гене репарации ошибочного спаривания ДНК, представляет собой гипермутированный рак, представляет собой рак HRD или HRR, предусматривает мутацию в полимеразе-дельта (POLD) или предусматривает мутацию в полимеразе-эпсилон (POLE).

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой В-крупноклеточную лимфому, тимому, острый миелоидный лейкоз, опухоль яичка, аденокарциному легкого, немелкоклеточный рак легкого, светлоклеточный рак почки, рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы (TNBC), рак молочной железы, отличный от трижды негативного (отличный от TNBC), рак желудка, плоскоклеточный рак легкого, мезотелиому, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак головы и шеи, меланому, гепатоцеллюлярную карциному, рак носоглотки, рак пищевода, аденокарциному толстой кишки, колоректальный рак, карциному прямой кишки, холангиокарциному, рак эндометрия матки, саркому, рак мочевого пузыря, карциному щитовидной железы, папиллярный рак почки, мультиформную глиобластому, рак печени, карциносаркому матки, феохромоцитому, высокодифференцированную глиому, хромофобный почечноклеточный рак, рак надпочечника или увеальную меланому.

В других вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), рак почки, рак мочевого пузыря, меланому, карциному из клеток Меркеля, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, рак матки, рак эндометрия, рак яичника, рак фаллопиевой трубы, рак молочной железы, рак предстательной железы, опухоль слюнной железы, тимому, аденокарциному, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак аппендикса, карциному уротелиальных клеток или плоскоклеточную карциному (например, легкого; аногенитальной области, в том числе ануса, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы; или пищевода).

В некоторых вариантах осуществления рак для лечения в контексте настоящего изобретения представляет собой меланому, почечноклеточную карциному, рак легкого, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак желчного пузыря, рак гортани, рак печени, рак щитовидной железы, рак желудка, рак слюнной железы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы или карциному из клеток Меркеля.

В вариантах осуществления рак представляет собой лимфому, такую как болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, множественную миелому, макроглобулинемию Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей и истинную полицитемию.

В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному. В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному легкого. В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному пищевода. В вариантах осуществления рак

представляет собой плоскоклеточную карциному аногенитальной области (например, ануса, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы). В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи (HNSCC).

В вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря, рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), рак фаллопиевой трубы(труб), холангиокарциному, аденокарциному толстой кишки, рак эндометрия, рак пищевода, саркому Юинга, рак желудка, светлоклеточный рак почки, рак легкого (например, аденокарциному легкого или плоскоклеточный рак легкого), мезотелиому, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак брюшины, рак предстательной железы, рак матки эндометрия или увеальную меланому. В вариантах осуществления рак представляет собой рак яичника, рак фаллопиевой трубы(труб) или рак брюшины. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы (например, TNBC). В вариантах осуществления рак представляет собой рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого). В вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак CNS или головного мозга, такой как нейробластома (NB), глиома, диффузная внутренняя мостовая глиома (DIPG), пилоидная астроцитомы, астроцитомы, анапластическая астроцитомы, мультиформная глиобластома, медуллобластома, краниофарингиома, эпендимома, пинеалома, гемангиобластома, акустическая шваннома, олигодендроглиома, менингиома, вестибулярная шваннома, аденома, метастатическая опухоль головного мозга, менингиома, опухоль спинного мозга или медуллобластома. В вариантах осуществления рак представляет собой опухоль CNS.

В других вариантах осуществления рак представляет собой меланому, почечноклеточную карциному, рак легкого, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак желчного пузыря, рак гортани, рак печени, рак щитовидной железы, рак желудка, рак слюнной железы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы или карциному из клеток Меркеля (см., например, Bhatia et al., *Curr. Oncol. Rep.*, 13(6): 488-497 (2011)).

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов имеется гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется гематологический рак, такой как диффузная В-крупноклеточная лимфома ("DLBCL"), лимфома Ходжкина ("HL"), неходжкинская лимфома ("NHL"), фолликулярная лимфома ("FL"), острый миелоидный лейкоз ("AML"), острый лимфобластный лейкоз ("ALL") или множественная миелома ("MM"). В вариантах осуществления рак представляет собой происходящий из кроветворной ткани рак, такой как острый лимфобластный лейкоз("ALL"), острый лимфобластный В-клеточный лейкоз, острый лимфобластный Т-клеточный лейкоз, острый миелоидный лейкоз ("AML"), острый лимфобластный лейкоз ("ALL"), острый промиелоцитарный лейкоз ("APL"), острый монобластный лейкоз, острый эритролейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый нелимфобластный лейкоз, острый недифференцированный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз ("CML"), хронический лимфоцитарный лейкоз ("CLL"), волосатоклеточный лейкоз и множественная миелома; острые и хронические лейкозы, такие как лимфобластные, миелогенные, лимфоцитарные и миелоцитарные лейкозы. В вариантах осуществления, гематологические рак представляет собой лимфому (например, лимфому Ходжкина (например, рецидивирующую или рефрактерную классическую лимфому Ходжкина (CHL), неходжкинскую лимфому, диффузную В-крупноклеточную лимфому или лимфому Т-лимфобластных предшественников), лимфоэпителиальную карциному или злокачественный гистиоцитоз.

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов имеется солидная опухоль. В вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль такую как фибросаркома, миксосаркома, липосаркома, хондросаркома, остеогенная саркома, хордома, ангиосаркома, эндотелиосаркома, лимфангиосаркома, лимфангиоэндотелиосаркома, синовиома, мезотелиома, опухоль Юинга, лейомиосаркома, рабдомиосаркома, остеосаркома, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак почки, рак поджелудочной железы, рак кости, рак молочной железы, рак яичника, рак предстательной железы, рак пищевода, рак желудка, рак ротовой полости, назальный рак, рак горла, плоскоклеточная карцинома, базальноклеточная карцинома, аденокарцинома, карцинома потовой железы, карцинома сальной железы, папиллярная карцинома, папиллярные аденокарциномы, цистаденокарцинома, медуллярная карцинома, бронхогенная карцинома, почечноклеточная карцинома, гепатома, карцинома желчного протока, хориокарцинома, семинома, эмбриональная карцинома, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичка, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточная карцинома легкого, карцинома мочевого пузыря, рак легкого, эпителиальная карцинома, рак кожи, меланому, нейробластома (NB) или ретинобластома. В некоторых вариантах осуществления опухоль является солидной опухолью на поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления опухоль является метастатической солидной опухолью. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль MSI-H. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой солидную опухоль MSS. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой POLE-мутантную солидную опухоль. В вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой POLD-мутантную солидную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов, подлежащих лечению с помощью способов в соответствии с настоящим изобретением, имеется рак, такой как рак головы и шеи, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), рак почки, рак мочевого пузыря, меланома, карцинома из клеток Меркеля, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, рак матки, рак эндометрия, рак яичника, рак фаллопиевой трубы, рак молочной железы, рак предстательной железы, опухоль слюнной железы, тимомы, аденокортикальная карцинома, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак аппендикса, карцинома уротелиальных клеток или плоскоклеточная карцинома (например, легкого; аногенитальной области, в том числе ануса, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы; или пищевода), или они восприимчивы к нему. В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов, подлежащих лечению с помощью способов в соответствии с настоящим изобретением, имеется рак легкого (например, NSCLC), рак почки, меланома, рак шейки матки, колоректальный рак или рак эндометрия (например, рак эндометрия MSS или рак эндометрия MSI-H) или восприимчивость к ним.

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов, подлежащих лечению с помощью способов в соответствии с настоящим изобретением, имеется немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), печеночноклеточный рак, рак почки, меланома, рак шейки матки, колоректальный рак, плоскоклеточная карцинома аногенитальной области (например, плоскоклеточная карцинома ануса, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы), рак головы и шеи, трижды негативный рак молочной железы, рак яичника или рак эндометрия, или они восприимчивы к нему. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль на поздней стадии, такая как немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), печеночноклеточный рак, рак почки, меланома, рак шейки матки, колоректальный рак, плоскоклеточная карцинома аногенитальной области (например, плоскоклеточная карцинома ануса, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы), рак головы и шеи, трижды негативный рак молочной железы, рак яичника или рак эндометрия. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль на поздней стадии с микросателлитной нестабильностью.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гинекологический рак (т.е. рак женской репродуктивной системы, такой как рак яичника, рак фаллопиевой трубы, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, рак матки, или первичный рак брюшины, или рак молочной железы). В некоторых вариантах осуществления разновидности рака женской репродуктивной системы включают без ограничения рак яичника, рак фаллопиевой трубы(труб), рак брюшины и рак молочной железы.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак яичника (например, серозный или светлоклеточный рак яичника). В вариантах осуществления рак представляет собой рак фаллопиевой трубы (например, серозный или светлоклеточный рак фаллопиевой трубы). В вариантах осуществления рак представляет собой первичный рак брюшины (например, серозный или светлоклеточный первичный рак брюшины).

В некоторых вариантах осуществления рак яичника представляет собой эпителиальную карциному. Эпителиальная карцинома составляет от 85 до 90% случаев рака яичника. Хотя исторически считается, что данное заболевание развивается на поверхности яичника, новые данные дают основание предположить, что по меньшей мере некоторые разновидности рака яичника берут свое начало от конкретных клеток в части фаллопиевой трубы. Фаллопиевы трубы представляют собой маленькие протоки, которые связывают яичники женщины с ее маткой, и являются частью репродуктивной системы женщины. В нормальной женской репродуктивной системе имеются две фаллопиевы трубы, по одной с каждой стороны матки. Раковые клетки, которые берут свое начало в фаллопиевой трубе, могут выходить на поверхность яичника на ранней стадии. Термин "рак яичника" часто используют для описания разновидностей эпителиального рака, которые берут свое начало в яичнике, в фаллопиевой трубе и слизистой оболочке брюшной полости, называемой брюшиной. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой или содержит опухоль половых клеток. Опухоли половых клеток представляют собой тип рака яичника, который развивается в клетках яичников, продуцирующих яйцеклетки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой или содержит стромальную опухоль. Стромальные опухоли развиваются в клетках соединительной ткани, удерживающей яичники вместе, которая иногда является тканью, которая вырабатывает женские гормоны, называемые эстрогенами. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой или содержит гранулезоклеточную опухоль. Гранулезоклеточные опухоли могут секретировать эстроген, что приводит к необычному влагалищному кровотечению во время диагностики. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак ассоциирован с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD"), мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR) и/или мутацией(мутациями) BRCA1/2. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак является чувствительным к средствам на основе платины. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак отвечал на средство терапии на основе платины. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак приобрел устойчивость к средству терапии на основе платины. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак однажды продемонстрировал частичный или полный ответ на средство терапии на основе платины (например, частичный или полный ответ на последнее средство терапии на

основе платины или на предпоследнее средство терапии на основе платины). В некоторых вариантах осуществления в настоящее время гинекологический рак является устойчивым к средству терапии на основе платины.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. Обычно рак молочной железы начинается либо в клетках молочных желез, известных как дольки, либо в протоках. Реже рак молочной железы может начинаться в стромальных тканях. К ним относятся жировые и волокнистые соединительные ткани молочной железы. Со временем клетки рака молочной железы могут проникать в близлежащие ткани, такие как подмышечные лимфатические узлы или легкие, в ходе процесса, известного как метастазирование. Стадия рака молочной железы, размер опухоли и скорость ее роста представляют собой факторы, которые определяют тип предлагаемого лечения. Варианты лечения включают хирургическое вмешательство по удалению опухоли, медикаментозное лечение, которое включает в себя химиотерапию и гормональную терапию, радиационную терапию и иммунотерапию. Прогноз и уровень выживаемости сильно варьируются; уровни пятилетней относительной выживаемости варьируются от 98 до 23% в зависимости от типа рака молочной железы, который имеет место. Рак молочной железы является вторым по распространенности видом рака в мире, в 2012 году было зарегистрировано примерно 1,7 миллиона новых случаев заболевания, и он является пятой по распространенности причиной смерти от рака, с примерно 521000 случаев смерти. Из этих случаев примерно 15% являются трижды негативными, при которых не экспрессируется рецептор эстрогена, рецептор прогестерона (PR) или HER2. В некоторых вариантах осуществления трижды негативный рак молочной железы (TNBC) характеризуется как раковые клетки молочной железы, которые являются негативными по экспрессии рецептора эстрогена (<1% клеток), негативными по экспрессии рецептора прогестерона (<1% клеток) и HER2-негативными.

В вариантах осуществления рак представляет собой ER-позитивный рак молочной железы, ER-негативный рак молочной железы, PR-позитивный рак молочной железы, PR-негативный рак молочной железы, HER2-позитивный рак молочной железы, HER2-негативный рак молочной железы, BRCA1/2-позитивный рак молочной железы, BRCA1/2-негативный рак или трижды негативный рак молочной железы (TNBC). В вариантах осуществления рак представляет собой трижды негативный рак молочной железы (TNBC). В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой метастатический рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой рак молочной железы на поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы II стадии, III стадии или IV стадии. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы IV стадии. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы. В вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой метастатический рак молочной железы. В вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой рак молочной железы MSI-H. В вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой рак молочной железы MSS. В вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой POLE-мутантный рак молочной железы. В вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой POLD-мутантный рак молочной железы. В вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой рак молочной железы с высокой ТМВ. В вариантах осуществления рак молочной железы ассоциирован с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов, подлежащих лечению с помощью способов в соответствии с настоящим изобретением, имеется рак эндометрия ("ЕС"), или они восприимчивы к нему. Карцинома эндометрия является наиболее распространенным видом рака женского полового тракта, насчитывающим 10-20 случаев на 100000 человеко-лет. Ежегодное число новых случаев рака эндометрия (ЕС) оценивается в приблизительно 325 тысяч во всем мире. Кроме того, ЕС является наиболее часто встречающимся раком у женщин с постменопаузой. Приблизительно 53% случаев рака эндометрия приходится на развитые страны. В 2015 году в США было диагностировано примерно 55000 случаев ЕС, и в настоящее время отсутствуют одобренные нацеленные терапевтические средства для применения при ЕС. Существует потребность в средствах и схемах, которые обеспечивают улучшение выживаемости при ЕС на поздней стадии и рецидивирующем ЕС при назначении 1L и 2L. Согласно прогнозам в 2016 году в США от ЕС умрет примерно 10170 человек. Наиболее распространенной гистологической формой является эндометриоидная аденокарцинома, составляющая приблизительно 75-80% диагностированных случаев. Другие гистологические формы включают в себя маточные папиллярные серозные (менее 10%), светлоклеточные 4%, слизистые 1%, плоскоклеточные менее 1% и смешанные приблизительно 10%.

С патогенетической точки зрения ЕС подразделяется на два различных типа, так называемых типа I и II. Опухоли типа I представляют собой эндометриоидные карциномы (ЕЕС) низкой степени и связанные с эстрогеном, при этом опухоли типа II представляют собой неэндометриоидные (НЕЕС) (в основном серозные и светлоклеточные) карциномы. Всемирная организация здравоохранения недавно обновила патологическую классификацию ЕС, признав девять различных подтипов ЕС, но ЕЕС и серозная карцинома (SC) составляют подавляющее большинство случаев. ЕЕС являются связанными с эстрогеном

карциномами, которые возникают у пациентов с перименопаузой, и им предшествуют предраковые поражения (гиперплазия эндометрия/эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия). Микроскопически при ЕЕС низкой степени (ЕЕС 1-2) содержатся трубчатые железы, несколько напоминающие пролиферативный эндометрий, с архитектурной сложностью со слиянием желез и криброзным характером. ЕЕС высокой степени демонстрирует солидный характер роста. Напротив, SC возникает у пациентов с постменопаузой в отсутствие гиперэстрогенизма. Под микроскопом SC демонстрирует толстые, фиброзные или отечные папиллы с заметной стратификацией опухолевых клеток, клеточным почкованием и анапластическими клетками с крупными эозинофильными цитоплазмами. Подавляющее большинство ЕЕС представляют собой опухоли низкой степени (1 и 2 степени) и связаны с хорошим прогнозом, когда они ограничиваются маткой. ЕЕС 3 степени (ЕЕС3) является агрессивной опухолью с повышенной частотой метастазирования в лимфатические узлы. SC очень агрессивны, не связаны со стимуляцией эстрогенами, в основном возникают у пожилых женщин. ЕЕС 3 и SC считаются опухолями высокой степени злокачественности. SC и ЕЕС3 сравнивали с применением данных программы обзорного наблюдения, эпидемиологии и конечных результатов (SEER) с 1988 по 2001 годы. Они представляли 10 и 15% ЕЕС соответственно, но составляли 39 и 27% случаев смерти от рака соответственно. Рак эндометрия также можно разделить на четыре молекулярные подгруппы: (1) ультрамутированный/POLE-мутантный; (2) гипермутированный MSI+ (например, MSI-H или MSI-L); (3) с малым числом копий/микросателлитно-стабильный (MSS); и (4) с большим числом копий/серозоподобный. Примерно 28% случаев характеризуются высокой MSI. (Murali, Lancet Oncol. (2014). В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак эндометрия 2L из подгруппы с дефицитом репарации ошибочного спаривания. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой метастатический рак эндометрия. В вариантах осуществления у пациента имеется рак эндометрия MSS. В вариантах осуществления у пациента имеется рак эндометрия MSI-H. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой рак эндометрия MSI-L. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой рак эндометрия MSS. В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой POLE-мутантный рак эндометрия (например, рак эндометрия MSI-H, предусматривающий мутацию в POLE). В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой POLD-мутантный рак эндометрия (например, рак эндометрия MSI-H, предусматривающий мутацию в POLD). В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой рак с высокой TMB эндометрия. В вариантах осуществления рак эндометрия ассоциирован с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления рак представляет собой опухоль гонады.

В вариантах осуществления рак представляет собой неэндометриальный рак (например, неэндометриальную солидную опухоль). В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак на поздней стадии. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой метастатический рак. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак MSI-H. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак эндометрия MSI-L. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак MSS. В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой POLE-мутантный рак (например, неэндометриальный рак MSI-H, предусматривающий мутацию в POLE). В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой POLD-мутантный рак (например, неэндометриальный рак MSI-H, предусматривающий мутацию в POLD). В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой солидную опухоль (например, солидную опухоль MSS, солидную опухоль MSI-H, POLD-мутантную солидную опухоль или POLE-мутантную солидную опухоль). В вариантах осуществления неэндометриальный рак представляет собой рак с высокой TMB. В вариантах осуществления неэндометриальный рак ассоциирован с дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR).

В вариантах осуществления рак представляет собой рак легкого. В вариантах осуществления рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному легкого. В вариантах осуществления рак легкого представляет собой мелкоклеточный рак легкого (SCLC). В вариантах осуществления рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), такой как плоскоклеточный NSCLC. В вариантах осуществления рак легкого представляет собой рак легкого с транслокацией ALK (например, NSCLC с транслокацией ALK). В вариантах осуществления рак представляет собой NSCLC с идентифицированной транслокацией ALK. В вариантах осуществления рак легкого представляет собой EGFR-мутантный рак легкого (например, EGFR-мутантный NSCLC). В вариантах осуществления рак представляет собой NSCLC с идентифицированной мутацией EGFR.

В вариантах осуществления рак представляет собой колоректальный (CRC) рак (например, солидную опухоль). В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой колоректальный рак на поздней стадии. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой метастатический колоректальный рак. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой колоректальный рак MSI-H. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой колоректальный

рак MSS. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой POLE-мутантный колоректальный рак. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой POLD-мутантный колоректальный рак. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой колоректальный рак с высокой TMB.

В вариантах осуществления рак представляет собой меланому. В вариантах осуществления меланома представляет собой меланому на поздней стадии. В вариантах осуществления меланома представляет собой метастатическую меланому. В вариантах осуществления меланома представляет собой меланому MSI-H. В вариантах осуществления меланома представляет собой меланому MSS. В вариантах осуществления меланома представляет собой POLE-мутантную меланому. В вариантах осуществления меланома представляет собой POLD-мутантную меланому. В вариантах осуществления меланома представляет собой меланому с высокой TMB.

В вариантах осуществления рак представляет собой рецидивирующий рак (например, рецидивирующий гинекологический рак, такой как рецидивирующий эпителиальный рак яичника, рецидивирующий рак фаллопиевой трубы, рецидивирующий первичный рак брюшины или рецидивирующий рак эндометрия).

В вариантах осуществления сигнатуры экспрессии генов, связанных с иммунитетом, могут быть предикторами ответа на средство терапии, направленное против PD-1, в случае рака, как описано в настоящем документе. Например, генная панель, которая включает в себя гены, связанные с передачей сигнала IFN- γ , может быть применима при идентификации пациентов, имеющих рак, которые получают пользу от средства терапии, направленного против PD-1. Иллюстративные генные панели описаны в Ayers et al., *J. Clin. Invest.*, 127(8):2930-2940, 2017. В вариантах осуществления пациент, имеющий рак, характеризуется раком, который представляет собой рак молочной железы (например, TNBC) или рак яичника. В вариантах осуществления пациент, имеющий рак, характеризуется раком, который представляет собой рак мочевого пузыря, рак желудка, рак желчного протока, рак пищевода или плоскоклеточную карциному головы и шеи (HNSCC). В вариантах осуществления пациент, имеющий рак, характеризуется раком, который представляет собой анальный рак или колоректальный рак.

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется опухоль, которая экспрессирует PD-L1. В некоторых вариантах осуществления статус PD-L1 является повышенным у пациента или популяции пациентов. В некоторых вариантах осуществления профили мутационной нагрузки и базовой экспрессии генов в архивных или свежих биопсиях, полученных до лечения, оценивают до, во время и/или после лечения с помощью средства на основе антитела к PD-1. В некоторых вариантах осуществления у пациентов оценивают статус и/или экспрессию TIM-3 и/или LAG-3.

В некоторых вариантах осуществления пациента ранее лечили с помощью одного или более различных методов лечения рака. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере некоторых пациентов в популяции пациентов, имеющих рак, ранее лечили с помощью одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере некоторых пациентов в популяции пациентов, имеющих рак, ранее лечили с помощью химиотерапии (например, химиотерапии на основе платины). Например, пациент, который получал две линии лечения рака, может быть идентифицирован как 2L пациент, имеющий рак (например, 2L пациент, имеющий NSCLC). В вариантах осуществления пациент получал две линии или более линий лечения рака (например, 2L+ пациент, имеющий рак, такой как 2L+ пациент, имеющий рак эндометрия). В вариантах осуществления пациента ранее лечили с помощью средства терапии, направленного против PD-1. В вариантах осуществления пациент ранее получал по меньшей мере одну линию лечения рака (например, пациент ранее получал по меньшей мере одну линию или по меньшей мере две линии лечения рака). В вариантах осуществления пациент ранее получал по меньшей мере одну линию лечения метастатического рака (например, пациент ранее получал одну или две линии лечения метастатического рака).

В вариантах осуществления пациент ранее не получал лечение с помощью средства иммунотерапии (например, пациент ранее не получал лечение с применением средства терапии, направленного против PD-1, направленного против PD-L1, направленного против CTLA-4, направленного против TIM-3 и/или направленного против LAG-3). В вариантах осуществления пациент ранее не получал лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против PD-1. В вариантах осуществления пациент ранее не получал лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против PD-L1. В вариантах осуществления пациент ранее не получал лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против CTLA-4. В вариантах осуществления пациент ранее не получал лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против TIM-3. В вариантах осуществления пациент ранее не получал лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против LAG-3. В вариантах осуществления пациент, который ранее не получал лечение с применением средства иммунотерапии, получил по меньшей мере одну другую линию лечения (LOT), описанную в настоящем документе. В вариантах осуществления пациент, который ранее не получал лечение с применением средства иммунотерапии, получил по меньшей мере одну, две, три, четыре или пять предшествующих LOT (например, любую LOT, описанную в настоящем документе).

В вариантах осуществления пациент ранее получил лечение с применением по меньшей мере одного средства иммунотерапии (например, пациент ранее получил лечение с применением средства терапии, направленного против PD-1, направленного против PD-L1, направленного против CTLA-4, направленного против TIM-3 и/или направленного против LAG-3). В вариантах осуществления пациент ранее получил лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против PD-1. В вариантах осуществления пациент ранее получил лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против PD-L1. В вариантах осуществления пациент ранее получил лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против CTLA-4. В вариантах осуществления пациент ранее получил лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против TIM-3. В вариантах осуществления пациент ранее получил лечение с применением средства иммунотерапии, направленного против LAG-3. В вариантах осуществления пациент, который ранее получил лечение с применением средства иммунотерапии, получил по меньшей мере одну другую линию лечения (LOT), описанную в настоящем документе. В вариантах осуществления пациент, который ранее не получал лечение с применением средства иммунотерапии, получил по меньшей мере одну, две, три, четыре или пять других LOT (например, любую LOT, описанную в настоящем документе).

В вариантах осуществления субъект является неподдающимся лечению с помощью средства, которое подавляет PD-1. В вариантах осуществления субъект является трудно поддающимся лечению с помощью средства, которое подавляет PD-1. В вариантах осуществления способ, описанный в настоящем документе, повышает чувствительность субъекта к лечению с помощью средства, которое подавляет PD-1.

В некоторых вариантах осуществления нарушение, подлежащее лечению с помощью способов по настоящему изобретению, представляет собой инфекционное заболевание. В некоторых вариантах осуществления инфекционное заболевание вызвано вирусом или бактерией. В некоторых вариантах осуществления вирус представляет собой вирус иммунодефицита человека (HIV), респираторно-синцитиальный вирус (RSV), вирус гриппа, вирус денге, вирус Эпштейна-Барр (EBV), папилломавирус человека (HPV), вирус гепатита В (HBV) или вирус гепатита С (HCV), где необязательно рак представляет собой инфицированный вирусом рак головы и шеи, рак шейки матки, гепатоцеллюлярную карциному или рак носоглотки. Если способ по настоящему изобретению применяют для лечения инфекционного заболевания, то средство на основе антитела к LAG-3 можно вводить в комбинации по меньшей мере с одним противобактериальным средством или по меньшей мере одним противовирусным средством. При этом противобактериальным средством может быть любой подходящий антибиотик, известный из уровня техники. Противовирусным средством может быть любая вакцина любого подходящего типа, которая специфически нацеливается на конкретный вирус (например, живые аттенуированные вакцины, субъединичные вакцины, рекомбинантные векторные вакцины) и низкомолекулярные противовирусные терапевтические средства (например, ингибиторы вирусной репликации и аналоги нуклеозидов).

Раскрытые способы можно применять для лечения любого подходящего типа аутоиммунного заболевания (т.е. заболевания или нарушения, вызванного чрезмерной активностью иммунной системы, при котором организм атакует и повреждает свои собственные ткани), такого как заболевания, описанные, например, в MacKay I.R. and Rose N.R., eds., *The Autoimmune Diseases, Fifth Edition*, Academic Press, Waltham, MA (2014). Примеры аутоиммунных заболеваний, которые можно лечить посредством раскрытых способов, включают без ограничения рассеянный склероз, сахарный диабет 1 типа, ревматоидный артрит, склеродермию, болезнь Крона, псориаз, системную красную волчанку (SLE) и язвенный колит. Когда способ по настоящему изобретению применяют для лечения аутоиммунного заболевания, то средство на основе антитела к LAG-3 можно применять в комбинации с противовоспалительным средством, включая, например, кортикостероиды (например, преднизон и флутиказон) и нестероидные противовоспалительные средства (NSAID) (например, аспирин, ибупрофен и напроксен).

Введение композиции, содержащей раскрытый полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, раскрытый полипептид легкой цепи иммуноглобулина, раскрытые средства на основе антитела к LAG-3, раскрытую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любое из вышеупомянутого, или раскрытый вектор, содержащий раскрытую последовательность нуклеиновой кислоты, индуцирует иммунный ответ против рака или инфекционного заболевания у млекопитающего. "Иммунный ответ" может подразумевать, например, продуцирование антител и/или активацию иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток).

Иллюстративные дозы и схемы введения доз средств, воздействующих на LAG-3.

Используемые в данном документе термины "лечение", "осуществление лечения" и т.п. могут относиться к достижению требуемого фармакологического и/или физиологического эффекта. В некоторых вариантах осуществления эффект представляет собой терапевтический эффект, т.е. эффектом является частичное или полное излечение заболевания и/или неблагоприятного симптома, присущего заболеванию. В связи с этим раскрытый способ может включать введение "терапевтически эффективного количества" средства, воздействующего на LAG-3. "Терапевтически эффективное количество" может относиться к количеству, эффективному в дозах и в течение необходимых периодов времени в достижении требуемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от таких факторов, как стадия заболевания, возраст, пол и масса индивидуума, а также спо-

способность средства на основе антитела к LAG-3 вызывать требуемый ответ у индивидуума. Например, терапевтически эффективное количество средства, воздействующего на LAG-3, может представлять собой количество, которое обеспечивает снижение биоактивности LAG-3 у человека.

Альтернативно фармакологический и/или физиологический эффект может быть профилактическим, т.е. эффект полностью или частично предупреждает заболевание или его симптом. В связи с этим, раскрытый способ может включать введение "профилактически эффективного количества" средства, воздействующего на LAG-3. "Профилактически эффективное количество" может относиться к количеству, эффективному в дозах и в течение необходимых периодов времени в достижении требуемого профилактического результата (например, предупреждения начала проявления заболевания).

Типичная доза может находиться, например, в диапазоне от 1 пг/кг до 20 мг/кг массы тела животного или человека; однако дозы выше или ниже данного иллюстративного диапазона попадают в объем настоящего изобретения. Суточная парентеральная доза может составлять от приблизительно 0,00001 мкг/кг до приблизительно 20 мг/кг общей массы тела (например, приблизительно 0,001 мкг/кг, приблизительно 0,1 мкг/кг, приблизительно 1 мкг/кг, приблизительно 5 мкг/кг, приблизительно 10 мкг/кг, приблизительно 100 мкг/кг, приблизительно 500 мкг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг или в диапазоне, определяемом любыми двумя из вышеуказанных значений), от приблизительно 0,1 мкг/кг до приблизительно 10 мг/кг общей массы тела (например, приблизительно 0,5 мкг/кг, приблизительно 1 мкг/кг, приблизительно 5 мкг/кг, приблизительно 150 мкг/кг, приблизительно 300 мкг/кг, приблизительно 750 мкг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг или в диапазоне, определяемом любыми двумя из вышеуказанных значений), от приблизительно 1 мкг/кг до 5 мг/кг общей массы тела (например, приблизительно 3 мкг/кг, приблизительно 15 мкг/кг, приблизительно 75 мкг/кг, приблизительно 300 мкг/кг, приблизительно 900 мкг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг или в диапазоне, определяемом любыми двумя из вышеуказанных значений) или от приблизительно 0,5 до 15 мг/кг массы тела в день (например, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 6 мг/кг, приблизительно 9 мг/кг, приблизительно 11 мг/кг, приблизительно 13 мг/кг или в диапазоне, определяемом любыми двумя из вышеуказанных значений). Терапевтическую или профилактическую эффективность можно отслеживать путем проведения периодической оценки получающих лечение пациентов. В случае повторных введений в течение нескольких дней или дольше в зависимости от состояния лечение можно повторять до появления требуемого подавления симптомов заболевания, или в качестве альтернативы лечение может продолжаться в течение всей жизни пациента. Однако могут быть применимы и другие схемы введения дозы, и эти схемы попадают в объем настоящего изобретения. Требуемая дозировка может доставляться за счет однократного болюсного введения композиции, нескольких болюсных введений композиции или непрерывного инфузионного введения композиции.

В некоторых вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, вводят субъекту в качестве средства монотерапии для индуцирования иммунного ответа. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 вводят в качестве средства монотерапии пациенту, у которого имеется рак. У пациента может быть любой вид рака. В некоторых вариантах осуществления рак включает любое одно или более из следующего: эпителиальный рак яичника (EOC), трижды негативный рак молочной железы (TNBC), уротелиальная карцинома (UC) после лечения средствами, направленными против PD-1/PD-L1, и UC, не подвергнутая лечению средствами, направленными против PD-1/L1.

В некоторых вариантах осуществления пациенту вводят дозу средства, воздействующего на LAG-3. В некоторых вариантах осуществления подходящие дозы включают 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790 или 800 мг/пациент. В некоторых вариантах осуществления доза выбрана из 20, 80, 240 и 720 мг/пациент. В вариантах осуществления подходящая доза находится в диапазоне от приблизительно 240 мг/пациент до приблизительно 720 мг/пациент. В вариантах осуществления подходящая доза составляет приблизительно 240 мг/пациент, приблизительно 320 мг/пациент, приблизительно 400 мг/пациент, приблизительно 480 мг/пациент, приблизительно 500 мг, приблизительно 560 мг/пациент, приблизительно 640 мг/пациент или приблизительно 720 мг/пациент. В вариантах осуществления подходящая доза составляет приблизительно 200 мг/пациент, приблизительно 300 мг/пациент, приблизительно 400 мг/пациент, приблизительно 500 мг/пациент, приблизительно 600 мг/пациент или приблизительно 700 мг/пациент. В других вариантах осуществления подходящая доза составляет приблизительно 250 мг/пациент, приблизительно 300 мг/пациент, приблизительно 350 мг/пациент, приблизительно 400 мг/пациент, приблизительно 450 мг/пациент, приблизительно 500 мг/пациент, приблизительно 550 мг/пациент, приблизительно 600 мг/пациент, приблизительно 650 мг/пациент или приблизительно 700 мг/пациент.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение средства, воздействующего на LAG-3, в дозе, составляющей 20 мг/пациент. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение средства, воздействующего на LAG-3, в дозе, составляющей 80 мг/пациент. В некоторых вари-

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 1000 мг, вводят один раз в две недели (Q2W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 1500 мг, вводят один раз в две недели (Q2W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 3 мг/кг, вводят один раз в две недели (Q2W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 10 мг/кг, вводят один раз в две недели (Q2W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 12 мг/кг, вводят один раз в две недели (Q2W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 15 мг/кг, вводят один раз в две недели (Q2W).

Например, в некоторых вариантах осуществления интервал введения составляет один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 500 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 720 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 900 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 1000 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 1500 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 1800 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 2100 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 2200 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 2500 мг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 10 мг/кг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 12 мг/кг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 15 мг/кг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 20 мг/кг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления дозу средства, воздействующего на LAG-3, составляющую приблизительно 25 мг/кг, вводят один раз в три недели (Q3W).

В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий CDR-H1, определенную под SEQ ID NO: 5; CDR-H2, определенную под SEQ ID NO: 6; CDR-H3, определенную под SEQ ID NO: 7; CDR-L1, определенную под SEQ ID NO: 8; CDR-L2, определенную под SEQ ID NO: 9; и CDR-L3, определенную под SEQ ID NO: 10. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий аминокислотную последовательность варибельной области тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3; и аминокислотную последовательность варибельной области легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий полипептидную последовательность тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 21; и полипептидную последовательность легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 22. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой TSR-033.

В некоторых вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, вводят субъекту в качестве комбинированного средства терапии, как дополнительно описано в настоящем документе (например, с антителом к PD-1 для индуцирования иммунного ответа). В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 вводят пациенту, у которого имеется рак. У пациента может быть любой вид рака. В некоторых вариантах осуществления рак включает любое одно или более из следую-

шего: эпителиальный рак яичника (EOC), трижды негативный рак молочной железы (TNBC), уротелиальная карцинома (UC) после лечения средствами, направленными против PD-1/PD-L1, и UC, не подвергнутая лечению средствами, направленными против PD-1/L1. В некоторых вариантах осуществления пациент, который получает средство на основе антитела к LAG-3 и средство на основе антитела к PD-1, сначала получает инфузию средства на основе антитела к LAG-3, а затем инфузию средства на основе антитела к PD-1. В некоторых вариантах осуществления пациент, который получает средство на основе антитела к LAG-3 и средство на основе антитела к PD-1, сначала получает инфузию средства на основе антитела к PD-1, а затем инфузию средства на основе антитела к LAG-3. В некоторых вариантах осуществления пациент получает инфузию антитела к LAG-3 при 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790 или 800 мг/пациент, а затем инфузию антитела к PD-1 при 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600 мг/пациент. В некоторых вариантах осуществления пациент получает инфузию антитела к LAG-3 при 20, 80, 240 или 720 мг/пациент, а затем инфузию антитела к PD-1 при 500 мг/пациент. В некоторых вариантах осуществления пациент получает инфузию антитела к PD-1 при 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600 мг/пациент, а затем инфузию антитела к LAG-3 при 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790 или 800 мг/пациент. В некоторых вариантах осуществления пациент получает инфузию антитела к PD-1 при 500 мг/пациент, а затем 20, 80, 240 или 720 мг/пациент. В некоторых вариантах осуществления интервал введения для комбинированного средства терапии составляет один раз в неделю (Q1W), один раз в две недели (Q2W), один раз в три недели (Q3W), один раз в четыре недели (Q4W), один раз в пять недель (Q5W), один раз в шесть недель (Q6W), один раз в семь недель (Q7W), один раз в восемь недель (Q8W), один раз в девять недель (Q9W) или один раз в десять недель (Q10W). В некоторых вариантах осуществления интервал введения для комбинированного средства терапии составляет один раз в три недели (Q3W).

В некоторых вариантах осуществления пациент сначала получает схему лечения с применением средства монотерапии, как описано выше, с последующим комбинированным средством терапии. Например, в некоторых вариантах осуществления пациент может получать средство монотерапии на основе антитела к LAG-3 при 20, 80, 240 или 720 мг/пациент с интервалами один раз в неделю (Q1W), один раз в две недели (Q2W), один раз в три недели (Q3W), один раз в четыре недели (Q4W), один раз в пять недель (Q5W), один раз в шесть недель (Q6W), один раз в семь недель (Q7W), один раз в восемь недель (Q8W), один раз в девять недель (Q9W) или один раз в десять недель (Q10W) с последующим комбинированным средством терапии на основе антитела к LAG-3 и антитела к PD-1, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления во время комбинированной терапии пациенту вводят дозу антитела к LAG-3 с последующим ингибитором PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 вводят в первой дозе приблизительно 500 мг один раз в 3 недели в течение множества циклов, например, 3, 4 или 5 циклов, с последующей второй дозой приблизительно 1000 мг один раз в 6 недель. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 вводят в первой дозе приблизительно 500 мг один раз в 3 недели в течение 3 циклов с последующей второй дозой приблизительно 1000 мг один раз в 6 недель или больше. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 вводят в первой дозе приблизительно 500 мг один раз в 3 недели в течение 5 циклов с последующей второй дозой приблизительно 1000 мг один раз в 6 недель или больше. В некоторых вариантах осуществления вторую дозу ингибитора PD-1 вводят один раз в 6 недель.

Композицию, содержащую эффективное количество раскрытого полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, раскрытого полипептида легкой цепи иммуноглобулина, раскрытого средства на основе антитела к LAG-3, раскрытой последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей любое из вышеупомянутого, или раскрытого вектора, содержащего раскрытую последовательность нуклеиновой кислоты, можно вводить млекопитающему с применением стандартных методов введения, включая пероральное, внутривенное, интраперитонеальное, подкожное, легочное, трансдермальное, внутримышечное, интраназальное, буккальное, подъязычное введение или введение с помощью суппозитория. Композиция может подходить для парентерального введения. Используемый в настоящем документе термин "парентеральное" может включать внутривенное, внутримышечное, подкожное, ректальное, вагинальное и интраперитонеальное введение. Композицию могут вводить млекопитающему с применением периферической системной доставки за счет внутривенной, интраперитонеальной или подкожной инъекции.

После введения млекопитающему (например, человеку) биологическую активность средства на ос-

нове антитела к LAG-3 можно измерять с помощью любого подходящего способа, известного из уровня техники. Например, биологическую активность можно оценить посредством определения стабильности конкретного средства на основе антитела к LAG-3. В одном варианте осуществления средство на основе антитела к LAG-3 характеризуется *in vivo* временем полужизни от приблизительно 30 мин до 45 дней (например, приблизительно 30 мин, приблизительно 45 мин, приблизительно 1 ч, приблизительно 2 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 10 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 1 сутки, приблизительно 5 дней, приблизительно 10 дней, приблизительно 15 дней, приблизительно 25 дней, приблизительно 35 дней, приблизительно 40 дней, приблизительно 45 дней, или находится в диапазоне, определяемом любыми двумя из вышеупомянутых значений). В одном варианте осуществления средство на основе антитела к LAG-3 характеризуется *in vivo* временем полужизни от приблизительно 2 часов до 20 дней (например, приблизительно 5 ч, приблизительно 10 ч, приблизительно 15 ч, приблизительно 20 ч, приблизительно 2 дня, приблизительно 3 дня, приблизительно 7 дней, приблизительно 12 дней, приблизительно 14 дней, приблизительно 17 дней, приблизительно 19 дней, или находится в диапазоне, определяемом любыми двумя из вышеупомянутых значений). В одном варианте осуществления средство на основе антитела к LAG-3 характеризуется *in vivo* временем полужизни от приблизительно 10 дней до приблизительно 40 дней (например, приблизительно 10 дней, приблизительно 13 дней, приблизительно 16 дней, приблизительно 18 дней, приблизительно 20 дней, приблизительно 23 дней, приблизительно 26 дней, приблизительно 29 дней, приблизительно 30 дней, приблизительно 33 дней, приблизительно 37 дней, приблизительно 38 дней, приблизительно 39 дней, приблизительно 40 дней, или находится в диапазоне, определяемом любыми двумя из вышеупомянутых значений).

Стабильность средства на основе антитела к LAG-3 можно измерять с применением любого другого подходящего анализа, известного из уровня техники, такого как, например, измерение времени полужизни в сыворотке крови, дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC), анализы на тепловой сдвиг и анализы вытеснения метки. Другие способы измерения стабильности белка *in vivo* и *in vitro*, которые можно применять в контексте настоящего изобретения, описаны, например, в Protein Stability and Folding, B.A. Shirley (ed.), Human Press, Totowa, New Jersey (1995); "Protein Structure, Stability, and Interactions", Methods in Molecular Biology, Shiver J.W. (ed.), Humana Press, New York, NY (2010) и Ignatova, Microb. Cell Fact., 4: 23 (2005).

Стабильность средства на основе антитела к LAG-3 можно измерять по значению средней точки перехода (T_m), представляющей собой температуру, при которой 50% аминокислотной последовательности присутствует в своей нативной конформации, а остальные 50% денатурированы. В целом, чем выше T_m , тем более стабильным является белок. В одном варианте осуществления раскрытое антитело к LAG-3 может иметь значение средней точки перехода (T_m) *in vitro*, составляющее приблизительно 60-100°C. Например, антитело к LAG-3 может иметь T_m *in vitro*, составляющую приблизительно 65-80°C (например, 66, 68, 70, 71, 75 или 79°C), приблизительно 80-90°C (например, приблизительно 81, 85 или 89°C) или приблизительно 90-100°C (например, приблизительно 91°C, приблизительно 95°C или приблизительно 99°C).

Измерение ответа опухоли.

В вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, обеспечивают клиническую пользу для субъекта.

В некоторых вариантах осуществления клиническая польза представляет собой полный ответ ("CR"), частичный ответ ("PR") или стабилизацию заболевания ("SD"). В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует по меньшей мере SD. В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует по меньшей мере PR. В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует CR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают SD. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают по меньшей мере PR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают CR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 20% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 20% пациентов достигают SD.

В некоторых вариантах осуществления клиническая польза (например, SD, PR и/или CR) определяется согласно Критериям оценки ответа при солидных опухолях (RECIST). В некоторых вариантах осуществления клиническая польза (например, SD, PR и/или CR) определяется согласно руководствам RECIST.

В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли можно измерить, например, с помощью руководства RECIST v 1.1. Руководства предоставлены в E.A. Eisenhauer, et al., "New response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (version 1.1.)", Eur. J. of Cancer, 45: 228-247 (2009), которое включено посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно руководствам требуется изначальная оценка общей опухолевой нагрузки на исходном уровне, которую используются в качестве сравнительной для последующих измерений. Опухоли можно измерять с применением любой системы визуализа-

ции, известной из уровня техники, например с помощью СТ-сканирования или рентгенографии. Поддающееся измерению заболевание определяют по наличию по меньшей мере одного поддающегося измерению очага. В исследованиях, где первичной конечной точкой является прогрессирование опухоли (либо период времени до прогрессирования, либо доля с прогрессированием за фиксированный период времени), в протоколе должно указываться, ограничен ли допуск пациентов с поддающимся измерению заболеванием или же пригодны только пациенты, у которых имеется неподдающееся измерению заболевание.

Если на исходном уровне присутствует более чем один поддающийся измерению очаг, все очаги вплоть до максимум пяти очагов в целом (и максимум двух очагов на орган), представляющие все пораженные органы, должны быть идентифицированы как целевые очаги, и они будут регистрироваться и измеряться на исходном уровне (это означает, что в тех случаях, когда у пациентов имеется только один или два пораженных участка органа, то соответственно могут быть зарегистрированы максимум два и четыре очага).

Целевые очаги следует выбирать с учетом их размера (очаги с наибольшим диаметром), они должны быть репрезентативными для всех пораженных органов, но, кроме того, должны быть таковыми, которые поддаются воспроизводимым повторным измерениям.

Лимфатические узлы заслуживают особого внимания, поскольку они представляют собой нормальные анатомические структуры, которые могут быть видны при визуализации, даже если они не поражены опухолью. Патологические узлы, которые определяются как поддающиеся измерению и могут быть идентифицированы как целевые очаги, должны удовлетворять критерию короткой оси P15 мм при СТ-сканировании. Только короткая ось этих узлов будет учитываться в суммарном значении на исходном уровне. Короткая ось узла представляет собой диаметр, обычно используемый рентгенологами, чтобы судить о том, поражен ли узел солидной опухолью. Размер узла обычно указывают по двум измерениям в плоскости, в которой получено изображение (для СТ-сканирования это почти всегда осевая плоскость; для MRI плоскость для обнаружения объекта может быть осевой, саггитальной или фронтальной). Меньшая из этих измеряемых показателей представляет собой короткую ось.

Например, узел брюшной полости, который регистрируют с размерами 20×30 мм, имеет короткую ось 20 мм и считается злокачественным поддающимся измерению узлом. В этом примере 20 мм должно быть записано как измерение узла. Все другие патологические узлы (с короткой осью P10 мм, но <15 мм) должны рассматриваться как нецелевые очаги. Узлы с короткой осью <10 мм рассматриваются как непатологические и не должны регистрироваться или отслеживаться.

Сумму диаметров (наибольших для не узловых очагов, коротких осей для узловых очагов) для всех целевых очагов будут рассчитывать и записывать как сумму диаметров на исходном уровне. Если лимфатические узлы подлежат включению в сумму, то, как отмечено выше, в сумму добавляют только короткую ось. Сумму диаметров на исходном уровне будут использовать в качестве эталона для дальнейшего определения характеристик любой объективной регрессии опухоли в поддающихся измерению параметрах заболевания.

Все другие очаги (или участки заболевания), в том числе патологические лимфатические узлы, необходимо идентифицировать как нецелевые очаги и также регистрировать на исходном уровне. Измерения не требуются, и эти очаги описывают как следующее: "присутствующие", "отсутствующие" или, в редких случаях, "явное прогрессирование". Кроме того, множественные нецелевые очаги, вовлекающие один и тот же орган, можно записывать в виде одной позиции в индивидуальной регистрационной карте (например, "множественные увеличенные лимфатические узлы таза" или "множественные метастазы в печени").

В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли можно измерить с помощью, например, связанных с иммунной системой руководств RECIST (irRECIST), которые включают в себя связанные с иммунной системой критерии ответа (irRC). В irRC измеряются измеряемые поражения, которые характеризуются по меньшей мере одним измерением с минимальным размером 10 мм (при наибольшем диаметре при СТ- или MRI-сканировании) для узловых поражений, и превышающим или равным 15 мм для узловых поражений, или по меньшей мере 20 мм при рентгенограмме грудной клетки.

В некоторых вариантах осуществления связанные с иммунной системой критерии ответа включают в себя CR (полное исчезновение всех поражений (изменяемых или нет и отсутствие новых поражений)); PR (снижение опухолевой нагрузки на 50% и больше относительно исходного уровня); SD (несоответствие критериям CR или PR при отсутствии PD) или PD (увеличение опухолевой нагрузки на 25% или больше относительно самого низкого уровня). Подробное описание irRECIST можно найти в Bohnsack et al., (2014) ESMO, ABSTRACT 4958, и Nishino et al., (2013) Clin. Cancer Res. 19(14): 3936-43.

В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли может быть оценен либо с помощью irRECIST, либо с помощью RECIST версии 1.1. В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли может быть оценен как с помощью irRECIST, так и с помощью RECIST версии 1.1.

Комбинированные средства терапии.

В настоящем документе предусмотрены способы, которые включают введение средства, воздействующего на LAG-3 (например, средства на основе антитела к LAG-3), в комбинации с одним или более

дополнительными терапевтическими средствами.

Например, средство, воздействующее на LAG-3 (например, средство на основе антитела к LAG-3), можно вводить в комбинации с другими средствами для лечения или предупреждения заболеваний, раскрытых в данном документе, за счет чего средства, которые являются питотоксичными для раковых клеток, модулируют иммуногенность раковых клеток или стимулируют иммунные ответы на раковые клетки. В связи с этим, например, средство на основе антитела к LAG-3 можно применять в комбинации по меньшей мере с одним другим противораковым средством, включая, например, любое химиотерапевтическое средство, известное из уровня техники; ионизирующее излучение; низкомолекулярные противораковые средства; противораковые вакцины; биологические терапевтические средства (например, другие моноклональные антитела, противораковые вирусы, средства генной терапии и адоптивный перенос Т-клеток) и/или хирургическое вмешательство. Если раскрытый способ применяют для лечения инфекционного заболевания, то средство, воздействующее на LAG-3 (например, средство на основе антитела к LAG-3), можно вводить в комбинации по меньшей мере с одним антибактериальным средством или по меньшей мере одним противовирусным средством. При этом противобактериальным средством может быть любой подходящий антибиотик, известный из уровня техники. Противовирусным средством может быть любая вакцина любого подходящего типа, которая специфически нацеливается на конкретный вирус (например, живые аттенуированные вакцины, субъединичные вакцины, рекомбинантные векторные вакцины) и низкомолекулярные противовирусные терапевтические средства (например, ингибиторы вирусной репликации и аналоги нуклеозидов). Когда способ по настоящему изобретению применяют для лечения аутоиммунного заболевания, то антитело к LAG-3 можно применять в комбинации с противовоспалительным средством, включая, например, кортикостероиды (например, преднизон и флутиказон) и нестероидные противовоспалительные средства (NSAID) (например, аспирин, ибупрофен и напроксен).

В некоторых вариантах осуществления, если средство, воздействующее на LAG-3 (например, средство на основе антитела к LAG-3), применяют для лечения рака или инфекционного заболевания, то антитело к LAG-3 можно вводить в комбинации с другими средствами, которые подавляют пути иммунных контрольных точек. См., например, фиг. 1.

Ингибиторы контрольной точки.

Средство, воздействующее на LAG-3 (например, средство на основе антитела к LAG-3), можно вводить в комбинации с другими средствами, которые подавляют пути иммунных контрольных точек. Комбинированные средства терапии, одновременно нацеливающиеся на два или более таких путей иммунных контрольных точек, продемонстрировали улучшенную и потенциально синергетическую противоопухолевую активность (см., например, Sakuishi et al., *J. Exp. Med.*, 207: 2187-2194 (2010); Ngiow et al., *Cancer Res.*, 71: 3540-3551 (2011) и Woo et al., *Cancer Res.*, 72: 917-927 (2012)).

В вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой средство, способное подавлять любое из следующих: PD-1 (например, подавление с помощью средств терапии, направленных против PD-1, против PD-L1 или против PD-L2), CTLA-4, TIM-3, TIGIT, LAG (например, LAG-3), CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5), VISTA, BTLA, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 или CD270), KIR, A2aR, MHC класса I, MHC класса II, GALS, аденозин, TGFR (например, TGFR бета), B7-H1, B7-H4 (VTCN1), OX-40, CD137, CD40, IDO или CSF-1R. В вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления ингибитором контрольной точки является антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

В вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой средство, которое подавляет передачу сигнала с участием белка 1 запрограммированной клеточной смерти (PD-1), ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA-4), белок 3, содержащий домены Т-клеточного иммуноглобулина и муцина (TIM-3), ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3) и домен ITIM (TIGIT), индоламин-2,3-диоксигеназу (IDO) или рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R). В некоторых вариантах осуществления предусмотрены способы лечения или предупреждения рака, инфекционных заболеваний или аутоиммунного заболевания у млекопитающего, включающие введение (i) средства на основе антитела, которое связывается с белком LAG-3, и (ii) средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, и/или средства, которое подавляет белок 3, содержащий домены Т-клеточного иммуноглобулина и муцина (TIM-3).

Средства, подавляющие CTLA-4.

В вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор CTLA-4 (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой малую молекулу. В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой связывающее CTLA-4 средство. В вариантах осуществления ингибитором CTLA-4 является антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления ингибитором CTLA-4 является ипилимумаб (Yervoy), AGEN1884 или тремелимуаб.

Дополнительные средства, подавляющие LAG-3.

В вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой дополнительный ингибитор LAG-3 (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой малую молекулу. В вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой связывающее LAG-3 средство. В вариантах осуществления ингибитором LAG-3 является антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой IMP321, релатлимаб (BMS-986016), BI 754111, GSK2831781 (IMP-731), Novartis LAG525 (IMP701), REGN3767, MK-4280, MGD-013, GSK-2831781, FS-118, XmAb22841, INCAGN-2385, FS-18, ENUM-006, AVA-017, AM-0003, биспецифический аффамер Avacta PD-L1/LAG-3, антитело к LAG-3 iOnctura, антитело к LAG-3 Arcus или Sym022, или ингибитор LAG-3, описанный в WO 2016/126858, WO 2017/019894 или WO 2015/138920, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Средства, подавляющие TIGIT.

В вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор TIGIT (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления ингибитор TIGIT представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления ингибитор TIGIT представляет собой малую молекулу. В вариантах осуществления ингибитор TIGIT представляет собой связывающее TIGIT средство. В вариантах осуществления ингибитором TIGIT является антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления ингибитором TIGIT является MTIG7192A, BMS-986207 или OMP-31M32.

Средства, подавляющие IDO.

В вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор IDO. В вариантах осуществления ингибитор IDO представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления ингибитор IDO представляет собой малую молекулу. В вариантах осуществления ингибитор IDO представляет собой связывающее IDO средство. В вариантах осуществления ингибитором IDO является антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

Средства, подавляющие CSF1R.

В вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор CSF1R. В вариантах осуществления ингибитор CSF1R представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления ингибитор CSF1R представляет собой малую молекулу. В вариантах осуществления ингибитор CSF1R представляет собой связывающее CSF1R средство. В вариантах осуществления ингибитором CSF1R является антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

Средства, которые подавляют передачу сигнала с участием PD-1.

В одном варианте осуществления раскрытое антитело к LAG-3 можно вводить в комбинации с антителом, которое связывается с LAG-3, и/или антителом, которое связывается с PD-1. В связи с этим способ лечения нарушения, которое чувствительно к подавлению LAG-3 (например, рак или инфекционное заболевание), у млекопитающего может дополнительно включать введение млекопитающему композиции, содержащей (i) антитело, которое связывается с белком LAG-3, и (ii) фармацевтически приемлемый носитель, или композиции, содержащей (i) антитело, которое связывается с белком PD-1, и (ii) фармацевтически приемлемый носитель.

Белок 1 запрограммированной клеточной смерти (PD-1) (также известный как белок 1 запрограммированной клеточной смерти) (кодируемый геном *Pdcd1*) представляет собой трансмембранный белок I типа из 268 аминокислот, изначально идентифицированный посредством вычитающей гибридизации в линии Т-клеток мыши, претерпевающих апоптоз (Ishida et al., *Embo J.*, 11: 3887-95 (1992)). Нормальная функция PD-1, экспрессируемого на клеточной поверхности активированных Т-клеток в нормальных условиях, заключается в подавлении нежелательных или чрезмерных иммунных ответов, включая аутоиммунные ответы.

PD-1 является представителем семейства CD28/CTLA-4 Т-клеточных регуляторов и экспрессируется на активированных Т-клетках, В-клетках и клетках миелоидной линии дифференцировки (Greenwald et al., *Annu. Rev. Immunol.*, 23: 515-548 (2005) и Sharpe et al., *Nat. Immunol.*, 8: 239-245 (2007)). PD-1 является подавляющим представителем семейства рецепторов CD28, которое также включает CD28, CTLA-4, ICOS и VTLA. PD-1 экспрессируется на активированных В-клетках, Т-клетках и миелоидных клетках (Agata et al., выше; Okazaki et al. (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14:391779-82; Bennett et al. (2003) *J. Immunol.* 170:711-8).

Были идентифицированы два лиганда для PD-1, лиганд-1 для PD (PD-L1) и лиганд-2 для PD (PD-L2), оба принадлежащие к суперсемейству белка B7 (Greenwald et al., выше). Было показано, что PD-1 негативно регулирует передачу сигналов рецептором антигена после вовлечения его лигандов (PD-L1

и/или PD-L2).

Показатели благоприятной частоты ответа наблюдались с некоторыми ингибиторами контрольной точки PD-1/L1 в клинике, однако остается значительная неудовлетворенная потребность в альтернативных методах лечения пациентов, которые проявляют первичную резистентность или испытывают рецидив вследствие приобретенной или адаптивной иммунной резистентности. (Sharma et al., Cell, 2017;168(4):707-723)

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства на основе антитела к LAG-3.

Средства, которые подавляют передачу сигнала с участием PD-1, для применения в комбинированных средствах терапии по настоящему изобретению включают средства, которые связываются и блокируют рецепторы PD-1 на Т-клетках без запуска трансдукции подавляющего сигнала, средства, которые связываются с лигандами PD-1 с предотвращением их связывания с PD-1, средства, которые обеспечивают и то и другое, и средства, которые предотвращают экспрессию генов, которые кодируют либо PD-1, либо природные лиганды PD-1. Соединения, которые связываются с природными лигандами PD-1, включают сам PD-1, а также активные фрагменты PD-1 и, в случае лиганда В7-Н1, белки и фрагменты В7.1. Такие антагонисты включают белки, антитела, бессмысловые молекулы и малые органические вещества.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, связывается с PD-1 человека. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, связывается с PD-L1 человека.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, для применения в комбинированных средствах терапии по настоящему изобретению представляет собой средство на основе антитела. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 связывает эпитоп PD-1, что блокирует связывание PD-1 с любым одним или более из его предполагаемых лигандов. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 связывает эпитоп PD-1, что блокирует связывание PD-1 с двумя или более из его предполагаемых лигандов. В предпочтительном варианте осуществления средство на основе антитела к PD-1 связывает эпитоп белка PD-1, что блокирует связывание PD-1 с PD-L1 и/или PD-L2. Средства на основе антитела к PD-1 в соответствии с настоящим изобретением могут содержать константную область тяжелой цепи (F_c) любого подходящего класса. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит константную область тяжелой цепи, которая основана на антителах IgG1, IgG2 или IgG4 дикого типа или их вариантах.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой антитело к PD-1 или его фрагмент. Моноклональные антитела, нацеливающиеся на PD-1, которые были протестированы в клинических исследованиях и/или получили одобрение к продаже в США. Примеры средств на основе антитела, которые нацеливаются на передачу сигнала с участием PD-1, включают, например, любое из средств на основе антител, перечисленных в следующей табл. 1.

Таблица 1

Средство на основе антитела Мишень (формат)	Разработчик
Ниволумаб Opdivo PD-1 (IgG4 человека)	Bristol-Myers Squibb ONO
Пембролизумаб Keytruda PD-1 (гуманизированный IgG4)	Merck
Атезолизумаб Tecentriq PD-L1 (IgG1 человека)	Roche
Дурвалумаб Imfinzi PD-L1 (IgG1 человека)	Astra Zeneca
Авелумаб Bavencio PD-L1 (IgG1 человека)	Merck KGaA/Pfizer
PDR001 PD-1 (гуманизированный IgG4)	Novartis
REGN2810 (SAR-439684) PD-1 (полностью человеческий IgG4)	Sanofi, Regeneron
BGB-A317 PD-1 (гуманизированный IgG4) сконструированный с отсутствием связывания FcγRI	BeiGene

Средство на основе антитела Мишень (формат)	Разработчик
LY3300054 PD-L1	Eli Lilly
BI 754091 (антитело к PD-1)	Boehringer Ingelheim
IBI308 (антитело к PD-1)	Innovent Biologics (Eli Lilly)
INCSHR-1210 (антитело к PD-1)	Incyte
JNJ-63723283 (антитело к PD-1)	Janssen Research & Development, LLC
JS-001 (антитело к PD-1)	Shanghai Junshi Bioscience Co., Ltd.
MEDI0680 (AMP-514) Антитело к PD-1 (гуманизированный IgG4)	MedImmune Inc
MGA-012 (антитело к PD-1)	MacroGenics
PF-06801591 (антитело к PD-1)	Pfizer
REGN-2810 (антитело к PD-1)	Regeneron
TSR-042 Антитело к PD-1 (гуманизированный IgG4)	TESARO
CX-072 Антитело к PD-L1	CytomX Therapeutics
FAZ053 Антитело к PD-L1	Novartis
Милламолекула к PD-L1	Bristol-Myers Squibb

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой атезолизумаб, авелумаб, BGB-A317, BI 754091, CX-072, дурвалумаб, FAZ053, IBI308, INCSHR-1210, JNJ-63723283, JS-001, MEDI-0680, MGA-012, ниволумаб, PDR001, пембролизумаб, PF-06801591, REGN-2810, TSR-042, любое из антител, раскрытых в WO 2014/179664, или их производные. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой антитело к PD-1, выбранное из группы, состоящей из BGB-A317, BI 754091, CX-072, FAZ053, IBI308, INCSHR-1210, JNJ-63723283, JS-001, LY3300054, MEDI-0680, MGA-012, ниволумаба, милламолекулы к PD-L1, PDR001, пембролизумаба, PF-06801591, REGN-2810 и TSR-042. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, представляет собой антитело к PD-1, выбранное из группы, состоящей из ниволумаба, пембролизумаба и TSR-042.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство представляет собой TSR-042, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб, PDR-001, тислелизумаб (BGB-A317), цемиплимаб (REGN2810), LY-3300054, JNJ-63723283, MGA012, BI-754091, IBI-308, камрелизумаб (HR-301210), BCD-100, JS-001, CX-072, BGB-A333, AMP-514 (MEDI-0680), AGEN-2034, CS1001, Sym-021, SHR-1316, PF-06801591, LZM009, KN-035, AB122, генолимзумаб (CBT-501), FAZ-053, СК-301, АК 104 или GLS-010, или любое из антител к PD-1, раскрытых в WO 2014/179664. В вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор PD-1. В вариантах осуществления ингибитором PD-1 является связывающее PD-1 средство (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления ингибитором PD-1 является связывающее PD-L1 или PD-L2 средство, такое как дурвалумаб, атезолизумаб, авелумаб, BGB-A333, SHR-

1316, FAZ-053, СК-301 или миламолекула к PD-L1 или их производные.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 представляет собой средство, раскрытое в публикации международной заявки на патент WO 2014/179664, полное содержание которой включено в настоящий документ. В вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 представляет собой средство, раскрытое в международной заявке на патент PCT/US18/13029, полное содержание которой включено в настоящий документ. В вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 представляет собой средство, раскрытое в международной заявке на патент PCT/US17/59618, полное содержание которой включено в настоящий документ.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, который на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичен SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит вариабельный домен легкой цепи, который на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичен SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, который на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичен SEQ ID NO: 23, и вариабельный домен легкой цепи, который на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичен SEQ ID NO: 24.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит одну или более последовательностей CDR, раскрытых в публикации международной заявки на патент WO 2014/179664, полное содержание которой включено в настоящий документ. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит одну или более последовательностей CDR, которые на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичны SEQ ID NO: 25-30.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит одну, две или три последовательности CDR тяжелой цепи, которые на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичны последовательностям CDR из SEQ ID NO: 25-27. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит одну, две или три последовательности CDR легкой цепи, которые на 90%, 95%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны последовательностям CDR из SEQ ID NO: 28-30. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит одну, две или три последовательности CDR тяжелой цепи, которые на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичны последовательностям CDR из SEQ ID NO: 25-27, и одну, две или три последовательности CDR легкой цепи, которые на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичны последовательностям CDR из SEQ ID NO: 28-30. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит шесть последовательностей CDR из SEQ ID NO: 25-30.

В вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой TSR-042. SEQ ID NO: 39 и 40 описывают иллюстративное гуманизованное моноклональное антитело к PD-1 (TSR-042), в котором в качестве каркасных последовательностей использованы ген тяжелой цепи IGHG4*01 человека и ген легкой каппа-цепи IGKC*01 человека. Имеется одиночная точечная мутация с заменой Ser на Pro в шарнирной области тяжелой цепи IgG4. Эта мутация находится по каноническому положению S228. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что данная точечная мутация служит для стабилизации шарнира тяжелой цепи антитела.

Полипептид тяжелой цепи антитела к PD-1 TSR-042 SEQ ID NO: 39 (последовательности CDR)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSTIS

GGGSYTTYQDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYAMDYW
GQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

Полипептид легкой цепи антитела к PD-1 TSR-042 SEQ ID NO: 40 (последовательности CDR)
DIQLTQSPSFLSA YVGDRTITCKASQDVGTA VAWYQQKPGKAPKLLIYWAS

TLHTGVP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQHYSSYPWTFGQGTKLEIKRTV
AAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVC LLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

В табл. 2 показаны предполагаемые остатки, вовлеченные в дисульфидные связи, из тяжелой цепи иллюстративного средства на основе антитела к PD-1 с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 39. В табл. 3 показаны предполагаемые остатки, вовлеченные в дисульфидные связи, из легкой цепи иллюстративного средства на основе антитела к PD-1 с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 40.

Таблица 2

ID остатка цистеина согласно Edelman ^a	Остаток HC mAb к PD-1 (положение в SEQ ID NO: 39)
I	22
II	96
III	130
IV	143
V	199
VI	222
VII	225
VIII	257
IX	317
X	363
XI	421

Таблица 3

ID остатка цистеина согласно Edelman ^a	Остаток LC mAb к PD-1 (положение в SEQ ID NO: 40)
I	23
II	88
III	134
IV	194
V	214

В данном иллюстративном антителе к PD-1 продемонстрирован занятый сайт N-гликозилирования по остатку аспарагина 293 в домене CH2 каждой тяжелой цепи в последовательности зрелого белка (SEQ ID NO: 39). Полученное в ходе экспрессии N-гликозилирование по этому сайту представляет собой смесь разновидностей олигосахаридов, как правило, наблюдаемых на IgG, экспрессируемых в культуре клеток млекопитающих, например, ниже показана относительное содержание разновидностей гликанов из препарата данного иллюстративного антитела к PD-1, культивируемого в клетках яичника китайского хомячка (CHO) (табл. 4).

Таблица 4. Анализ гликанов связывающего средства на основе антитела к PD-1 TSR-042

Вид	Содержание (% от общего олигосахаридов)	Описание гликана
G0	<0,1%	Нефукозилированный олигосахарид типа агалактозилированного двухантенного комплекса
G0F	19,5%	Олигосахарид типа агалактозилированного двухантенного комплекса с коровым фукозилированием
G1	0,1%	Нефукозилированный олигосахарид типа моногалактозилированного двухантенного комплекса
G1F	45,6%	Олигосахарид типа моногалактозилированного двухантенного комплекса с коровым фукозилированием
G2F	27,4%	Олигосахарид типа галактозилированного двухантенного комплекса с коровым фукозилированием
M5	0,5%	Олигоманнозидированный N-гликан, Man ₅ GlcNAc ₂

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят в дозе приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг один раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг один раз в три недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1)

вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг один раз в четыре недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) в дозе приблизительно 500 мг. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу приблизительно 500 мг один раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу приблизительно 500 мг один раз в три недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу приблизительно 500 мг один раз в четыре недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу приблизительно 1000 мг один раз в шесть недель. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят согласно схеме, которая предусматривает первую дозу приблизительно 500 мг один раз в три недели (Q3W) в течение первых 2-6 (например, первых 2, 3, 4, 5 или 6) циклов введения дозы и вторую дозу приблизительно 1000 мг один раз в шесть недель (Q6W) до тех пор, пока лечение не будет прекращено (например, по причине прогрессировать заболевания, нежелательных эффектов или согласно решению врача). В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1, такое как TSR-042) вводят согласно схеме, которая предусматривает первую дозу приблизительно 500 мг один раз в три недели (Q3W) в течение первых четырех циклов введения дозы и вторую дозу приблизительно 1000 мг один раз в шесть недель (Q6W) до тех пор, пока лечение не будет прекращено (например, по причине прогрессировать заболевания, нежелательных эффектов или согласно решению врача). В вариантах осуществления связывающее PD-1 средство представляет собой антитело к PD-1. В вариантах осуществления связывающее PD-1 средство представляет собой TSR-042.

В определенных способах средство на основе антитела к PD-1 можно вводить до (например, за 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 недель), одновременно или после (например, через 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 недель) введения связывающего LAG-3 средства субъекту, нуждающемуся в этом.

Средства, которые подавляют передачу сигнала с участием TIM-3.

Предполагается, что TIM-3 играет роль в истощении Т-клеток и ограничении противоопухолевого иммунного ответа и является мишенью при лечении рака, инфекционного заболевания или аутоиммунного заболевания.

TIM-3 представляет собой трансмембранный белок 1 типа размером 60 кДа, состоящий из трех доменов: N-концевого домена, подобного вариационному домену Ig (IgV); центрального муцинового домена, богатого Ser/Thr, и трансмембранного домена с коротким внутриклеточным хвостом (см., например, Kane, L.P., *Journal of Immunology*, 184(6): 2743-2749 (2010)). Первоначально TIM-3 идентифицировали на Th1-клетках конечной стадии дифференцировки и обнаружили, что он негативно регулирует Т-клеточный ответ за счет индуцирования апоптоза Т-клеток (см., например, Hastings et al., *Eur. J. Immunol.*, 39(9): 2492-2501 (2009)). TIM-3 также экспрессируется на активированных Th17- и Tc1-клетках, а нарушение регуляции экспрессии Tim-3 на CD4+ Т-клетках и CD8+ Т-клетках ассоциировано с некоторыми аутоиммунными заболеваниями, вирусными инфекциями и раком (см., например, Liberal et al., *Hepatology*, 56(2): 677-686 (2012); Wu et al., *Eur. J. Immunol.*, 42(5): 1180-1191 (2012); Anderson, A.C., *Curr. Opin. Immunol.*, 24(2): 213-216 (2012) и Han et al., *Frontiers in Immunology*, 4: 449 (2013)).

Предполагаемые лиганды TIM-3 включают фосфатидилсерин (Nakayama et al., *Blood*, 113: 3821-3830 (2009)), галектин-9 (Zhu et al., *Nat. Immunol.*, 6: 1245-1252 (2005)), белок 1 из группы белков с высокой подвижностью (HMGB1) (Chiba et al., *Nature Immunology*, 13: 832-842 (2012)) и молекулу 1 клеточной адгезии, родственную раково-эмбриональным антигенам (CEACAM1) (Huang et al., *Nature*, 577(7534): 386-90 (2015)).

Функции TIM-3 заключаются в регуляции различных аспектов иммунного ответа. Взаимодействие TIM-3 и галектина-9 (Gal-9) индуцирует клеточную гибель, а блокировка этого взаимодействия *in vivo* усиливает аутоиммунитет и подавляет толерантность в экспериментальных моделях, что дает все основания предположить, что TIM-3 представляет собой молекулу отрицательной регуляции. В отличие от эффекта в отношении Т-клеток взаимодействие TIM-3 и Gal-9 проявляет противомикробные эффекты за счет стимуляции клиренса внутриклеточных патогенов из макрофагов (см., например, Sakuishi et al., *Trends in Immunology*, 32(8): 345-349 (2011)). *In vivo* супрессия TIM-3, как было показано, повышает патологическую тяжесть экспериментального аутоиммунного энцефаломиелимита (Monney et al., выше; и Anderson, A.C. and Anderson, D.E., *Curr. Opin. Immunol.*, 18: 665-669 (2006)). Исследования также позволяют предположить, что нарушение регуляции пути TIM-3-галектин-9 может играть определенную роль в развитии хронических аутоиммунных заболеваний, таких как рассеянный склероз (Anderson and Anderson, выше). TIM-3 стимулирует клиренс апоптотических клеток посредством связывания фосфатидилсерина за счет своей уникальной связывающей щели (см., например, DeKruyff et al., *J. Immunol*, 184(4): 1918-1930 (2010)).

Подавление активности TIM-3, например, за счет применения моноклональных антител, в настоя-

шее время исследуется в роли средства иммунотерапии опухолей на основании результатов доклинических испытаний (см., например, Ngiow et al., *Cancer Res.*, 77(21): 1-5 (2011); Guo et al., *Journal of Translational Medicine*, 11: 215 (2013); and Ngiow et al., *Cancer Res.*, 77(21): 6567-6571 (2011)).

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к LAG-3 вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства на основе антитела к LAG-3. В некоторых родственных вариантах осуществления субъект получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, для применения в комбинированных средствах терапии по настоящему изобретению представляет собой средство на основе антитела. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 связывает эпитоп TIM-3, что блокирует связывание TIM-3 с любым одним или более из его предполагаемых лигандов. Средства на основе антитела к TIM-3 в соответствии с настоящим изобретением могут содержать константную область тяжелой цепи (F_c) любого подходящего класса. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит константную область тяжелой цепи, которая основана на антителах IgG1, IgG2 или IgG4 дикого типа или их вариантах.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, представляет собой антитело к TIM-3 или его фрагмент. Моноклональные антитела, нацеливающиеся на TIM-3, которые были протестированы в клинических исследованиях и/или получили одобрение к продаже в Соединенных Штатах.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 представляет собой MBG453, LY3321367, Sym023 или его производное. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 представляет собой средство, раскрытое в публикации международной заявки на патент WO2016/161270, полное содержание которой включено в настоящий документ. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит переменный домен тяжелой цепи, который на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичен переменному домену из SEQ ID NO: 31. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит переменный домен легкой цепи, который на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичен переменному домену из SEQ ID NO: 32. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит переменный домен тяжелой цепи, который на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичен переменному домену из SEQ ID NO: 31, и переменный домен легкой цепи, который на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичен переменному домену из SEQ ID NO: 32.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит тяжелую цепь, которая представляет собой последовательность, которая на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентична SEQ ID NO: 31, или содержит ее. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит легкую цепь, которая представляет собой или содержит последовательность, которая на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентична SEQ ID NO: 32, или содержит ее. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит тяжелую цепь, которая представляет собой последовательность, которая на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентична SEQ ID NO: 31, или содержит ее, и легкую цепь, которая представляет собой последовательность, которая на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентична SEQ ID NO: 32, или содержит ее.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит одну, две или три последовательности CDR тяжелой цепи, которые на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичны последовательностям CDR из SEQ ID NO: 33-35. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит одну, две или три последовательности CDR легкой цепи, которые на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичны последовательностям CDR из SEQ ID NO: 36-38. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит одну, две или три последовательности CDR тяжелой цепи, которые на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичны последовательностям CDR из SEQ ID NO: 33-35, и одну, две или три последовательности CDR легкой цепи, которые на 90, 95, 97, 98, 99 или 100% идентичны последовательностям CDR из SEQ ID NO: 36-38. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 содержит шесть последовательностей CDR из SEQ ID NO: 33-38.

В вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 представляет собой средство, описанное в WO 2016/161270, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 представляет собой средство, описанное в PCT/US17/59619, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 представляет собой средство, описанное в PCT/US18/13021, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей

полноте.

В вариантах осуществления ингибитор TIM-3 представляет собой TSR-022. TSR-022 предусматривает гуманизованное моноклональное антитело к TIM-3, содержащее тяжелую цепь, аминокислотная последовательность которой содержит SEQ ID NO: 31, и легкую цепь, аминокислотная последовательность которой содержит SEQ ID NO: 32. В этом антителе к TIM-3 в качестве каркасных последовательностей применяются ген тяжелой цепи IGHG4*01 человека и ген легкой каппа-цепи IGKC*01 человека. Кроме того, имеется одна точечная мутация с заменой Ser на Pro в шарнирной области тяжелой цепи IgG4 по каноническому положению S228. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что данная точечная мутация служит для стабилизации шарнира тяжелой цепи антитела.

В отношении наблюдаемых дисульфидных связей и гликозилирования представлена дополнительная биофизическая и биохимическая характеристика данного иллюстративного гуманизованного моноклонального антитела к TIM-3. Пептиды, расщепленные с помощью Lys-C и трипсина, тщательно отделяли и выявляли с помощью анализа LC-MS в режиме реального времени. Связи, представляющие собой дисульфидные соединения, подтверждали путем сравнения общих ионных хроматограмм в невосстанавливающих (NR) условиях и восстанавливающих условиях. Дисульфидные связи соответствовали ожидаемому характеру дисульфидных связей у молекулы IgG4. Остатки, вовлеченные в ожидаемые меж- и внутрицепочечные дисульфидные связи, приведены в таблице ниже (табл. 5, 6 и 7).

Таблица 5. Ожидаемые остатки, вовлеченные в дисульфидные связи тяжелой цепи иллюстративного средства на основе антитела к TIM-3, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 31

ID цистеинового остатка	Остаток HC mAb к TIM-3 (положение в SEQ ID NO: 31)
I	22
II	96
III	127
IV	140
V	196
VI	219
VII	222
VIII	254
IX	314
X	360
XI	418

Таблица 6. Ожидаемые остатки, вовлеченные в дисульфидные связи легкой цепи иллюстративного средства на основе антитела к TIM-3, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 32

ID цистеинового остатка	Остаток LC mAb к TIM-3 (положение в SEQ ID NO: 32)
I	23
II	88
III	134
IV	194
V	214

Таблица 7. Иллюстративные варианты расположения дисульфидных связей в случае антитела к TIM-3 TSR-022

№ дисульфидной связи	Пептиды, содержащие дисульфидные связи	Сайт связи в HC (положение в SEQ ID NO:31)	Сайт связи в LC (положение в SEQ ID NO:32)
DS1	VTITCR=FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF AVYYCQQSHSAPLTFGGGTK		23 88
DS2	SGTASVVCLLNNFYPR=VYACEVTHQ GLSSPVTK		134 194
DS3	SFNRGEC=GPSVFPLAPCSR GEC=GPSVFPLAPCSR	127	214
DS4	LSCAAASGFTFSSYDMSWVR=AEDTA VYYCASMDYWGQGTTVTVSSASTK	22 97	
DS5	STSESTAALGCLVK=TYTCNVDPK STSESTAALGCLVK=TYTCNVDPKPS NTK	140 196	
DS6	YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK=YG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK=YG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK	219 222	
DS7	TPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVD GVEVHNAK=CK	254 314	
DS8	NQVSLTCLVK=WQEGNVFSCSVME ALHNHYTQK	360 418	

LC: легкая цепь; HC: тяжелая цепь.

В данном иллюстративном антителе к TIM-3 продемонстрирован занятый сайт N-гликозилирования по остатку аспарагина 290 в домене CH2 каждой тяжелой цепи в последовательности зрелого белка (SEQ ID NO: 31). Полученное в ходе экспрессии N-гликозилирование по этому сайту представляет собой смесь разновидностей олигосахаридов, как правило, наблюдаемых на IgG, экспрессируемых в культуре клеток млекопитающих, например, ниже показана относительное содержание разновидностей гликанов из препарата данного иллюстративного антитела к TIM-3, культивируемого в клетках яичника китайского хомячка (CHO) (табл. 8).

Таблица 8. Анализ гликанов связывающего средства на основе антитела к TIM-3

Вид	Содержание (% от общего числа олигосахаридов)	Описание гликана
G0F	20,1%	Олигосахарид типа агалактозилированного двухантенного комплекса с коровым фукозилированием
G1F	41,9%	Олигосахарид типа моногалактозилированного двухантенного комплекса с коровым фукозилированием
G2F	29,0%	Олигосахарид типа галактозилированного двухантенного комплекса с коровым фукозилированием
G2FS1	3,2%	Олигосахарид типа моносиалированного галактозилированного двухантенного комплекса с коровым фукозилированием
G2FS2	1,2%	Олигосахарид типа дисиалированного галактозилированного двухантенного комплекса с коровым фукозилированием
M5	0,4%	Олигосахарид типа N-связанный олигосахарид, Man ₅ GlcNAc ₂

Например, ингибитор TIM-3 (например, TSR-022) можно вводить в дозе, составляющей приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг (например, приблизительно 1 мг/кг; приблизительно 3 мг/кг или приблизительно 10 мг/кг), или постоянной дозе от приблизительно 100 до 1500 мг (например, постоянной дозе приблизительно 100 мг; постоянной дозе приблизительно 200 мг; постоянной дозе приблизительно 300 мг; постоянной дозе приблизительно 400 мг; постоянной дозе приблизительно 500 мг; постоянной дозе приблизительно 600 мг; постоянной дозе приблизительно 700 мг; постоянной дозе приблизительно 800 мг; посто-

янной дозе приблизительно 900 мг; постоянной дозе приблизительно 1000 мг; постоянной дозе приблизительно 1100 мг; постоянной дозе приблизительно 1200 мг; постоянной дозе приблизительно 1300 мг; постоянной дозе приблизительно 1400 мг или постоянной дозе приблизительно 1500 мг).

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 (например, антитело к TIM-3) вводят в дозе 0,1, 1, 3 или 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу 0,1, 1,3 или 10 мг/кг один раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу 1, 3 или 10 мг/кг один раз в три недели.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 вводят согласно схеме, которая предусматривает дозу 1, 3 или 10 мг/кг один раз в четыре недели. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 вводят в фиксированной дозе в диапазоне от 200 мг до 1500 мг. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 вводят в фиксированной дозе в диапазоне от 300 мг до 1000 мг. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 вводят согласно схеме, которая предусматривает фиксированную дозу один раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 вводят согласно схеме, которая предусматривает фиксированную дозу один раз в три недели. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к TIM-3 вводят согласно схеме, которая предусматривает фиксированную дозу один раз в четыре недели.

В определенных способах средство на основе антитела к TIM-3 можно вводить до (например, за 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 недель), одновременно или после (например, через 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 недель) введения связывающего LAG-3 средства субъекту, нуждающемуся в этом.

Тройная комбинированная терапия с применением средств, воздействующих на LAG-3, PD-1 и TIM-3.

В вариантах осуществления комбинированное средство терапии представляет собой средство терапии с тройной блокадой, предусматривающее введение субъекту средства, воздействующего на LAG-3, средства, воздействующего на PD-1, и средства, воздействующего на TIM-3.

Несмотря на успехи при применении средств терапии, нацеливающихся на молекулы иммунных контрольных точек, многие пациенты не получают преимуществ от одобренных в настоящее время антител, направленных против PD-1 и CTLA-4. У этих пациентов могут совпадать другие механизмы иммунной супрессии, предотвращающие эффективный противоопухолевый иммунитет. Таким образом, существует необходимость в разработке дополнительных средств терапии, направленных против дополнительных иммунологических мишеней.

В гипочувствительности Т-клеток, называемой истощением Т-клеток, задействованы иммунные ингибиторные рецепторы, экспрессируемые Т-клетками, включая ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами антиген 4 (CTLA-4), белок 1 запрограммированной клеточной смерти (PD-1), белок 3, содержащий домены Т-клеточного иммуноглобулина и муцина (TIM-3), и ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3). Кроме того, LAG-3 широко ассоциируется с истощенными или дисфункциональными Т-клетками и часто коэкспрессируется как с PD-1, так и с TIM-3.

В другом аспекте средство, которое подавляет передачу сигнала с участием LAG-3 (например, средство на основе антитела к LAG-3), вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, и/или лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства на основе антитела к LAG-3 и лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1. В некоторых вариантах осуществления средство, которое подавляет передачу сигнала с участием PD-1, вводят субъекту, который получает, получал или будет получать лечение с помощью средства, которое подавляет передачу сигнала с участием TIM-3, и лечение с помощью средства на основе антитела к LAG-3. В вариантах осуществления пациенту дополнительно вводят одно или более дополнительных терапевтических средств в дополнение к средствам, воздействующим на LAG-3, PD-1 и TIM-3, описанным в настоящем документе, и/или пациент получает один или более дополнительных способов лечения. Например, лечение с помощью средств, воздействующих на LAG-3, PD-1 и TIM-3, можно осуществлять в комбинации с одним или более из хирургического вмешательства, средства лучевой терапии, химиотерапии, иммунотерапии, ангиогенного средства или противовоспалительного средства), или лечение с помощью средств, воздействующих на LAG-3, PD-1 и TIM-3, можно осуществлять в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими средствами (например, ингибитором PARP, таким как нирапариб), как описано в настоящем документе.

В частности, определенные способы, описанные в настоящем документе, относятся к тройному комбинированному средству терапии или средству терапии с тройной блокадой, где субъекту вводят средство, воздействующее на PD-1, средство, воздействующее на TIM-3, и средство, воздействующее на LAG-3. Такая тройная комбинированная терапия может быть более эффективной и обеспечивать допол-

нительную пользу некоторым пациентам (например, тройная комбинированная терапия может быть более эффективной или обеспечивать дополнительную пользу пациенту по сравнению с монотерапией с использованием средства, воздействующего на PD-1, средства, воздействующего на TIM-3, и средства, воздействующего на LAG-3, или по сравнению с двойной терапией с использованием любой комбинации средства, воздействующего на PD-1, средства, воздействующего на TIM-3, и средства, воздействующего на LAG-3).

Подходящие средства, воздействующие на PD-1, включают любые средства, которые подавляют передачу сигнала с участием PD-1, как описано в настоящем документе. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой связывающее PD-1 средство. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой связывающее PD-1 средство (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления связывающее PD-1 средство представляет собой TSR-042, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб, PDR-001, тислелизумаб (BGB-A317), цемиплимаб (REGN2810), LY-3300054, JNJ-63723283, MGA012, BI-754091, IBI-308, камрелизумаб (HR-301210), BCD-100, JS-001, CX-072, BGB-A333, AMP-514 (MEDI-0680), AGEN-2034, CS1001, Sym-021, SHR-1316, PF-06801591, LZM009, KN-035, AB122, генолимзумаб (CBT-501), FAZ-053, CK-301, AK 104 или GLS-010, или любое из антител к PD-1, раскрытых в WO2014/179664. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1, представляет собой TSR-042.

Подходящие средства, воздействующего на TIM-3, включают любые средства, которые подавляют передачу сигнала с участием TIM-3, как описано в настоящем документе. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой связывающее TIM-3 средство. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой связывающее TIM-3 средство (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления средством, воздействующим на TIM-3, является MBG453, LY3321367, Sym023 или его производное. В некоторых вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой средство, раскрытое в публикации международной заявки на патент WO 2016/161270, полное содержание которой включено в настоящий документ. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3, представляет собой TSR-022.

Подходящие средства, воздействующие на LAG-3, включают любые средства, которые подавляют передачу сигнала с участием LAG-3, как описано в настоящем документе. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой связывающее LAG-3 средство. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой связывающее LAG-3 средство (например, антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой антитело, конъюгат на основе антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой IMP321, релатлимаб (BMS-986016), BI 754111, GSK2831781 (IMP-731), Novartis LAG525 (IMP701), REGN3767, MK-4280, MGD-013, GSK-2831781, FS-118, XmAb22841, INCAGN-2385, FS-18, ENUM-006, AVA-017, AM-0003, биспецифический аффамер Avasta PD-L1/LAG-3, антитело к LAG-3 iOnctura, антитело к LAG-3 Arcus или Sym022, или ингибитор LAG-3, описанный в WO 2016/126858, WO 2017/019894 или WO 2015/138920, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий CDR-H1, определенную под SEQ ID NO: 5; CDR-H2, определенную под SEQ ID NO: 6; CDR-H3, определенную под SEQ ID NO: 7; CDR-L1, определенную под SEQ ID NO: 8; CDR-L2, определенную под SEQ ID NO: 9; и CDR-L3, определенную под SEQ ID NO: 10. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий аминокислотную последовательность варибельной области тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3; и аминокислотную последовательность варибельной области легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий полипептидную последовательность тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последова-

тельности с SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 21; и полипептидную последовательность легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 22. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, представляет собой TSR-033.

В вариантах осуществления способ включает введение средства, воздействующего на PD-1, которое представляет собой TSR-042, и средства, воздействующего на TIM-3, которое представляет собой TSR-022. В вариантах осуществления способ дополнительно включает введение средства, воздействующего на LAG-3, которое представляет собой полипептид, содержащий CDR-H1, определенную под SEQ ID NO: 5; CDR-H2, определенную под SEQ ID NO: 6; CDR-H3, определенную под SEQ ID NO: 7; CDR-L1, определенную под SEQ ID NO: 8; CDR-L2, определенную под SEQ ID NO: 9; и CDR-L3, определенную под SEQ ID NO: 10. В вариантах осуществления способ дополнительно включает введение средства, воздействующего на LAG-3, которое представляет собой полипептид, содержащий аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3; и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4. В вариантах осуществления способ дополнительно включает введение средства, воздействующего на LAG-3, которое представляет собой полипептид, содержащий полипептидную последовательность тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 21; и полипептидную последовательность легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 22. В вариантах осуществления способ дополнительно включает введение средства, воздействующего на LAG-3, которое представляет собой TSR-033.

Дозу средства, воздействующего на PD-1, средства, воздействующего на TIM-3, и средства, воздействующего на LAG-3, можно вводить независимо в соответствии с любой схемой введения дозы, описанной в настоящем документе.

В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1 (например, связывающее PD-1 средство, такое как TSR-042), вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 500 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1 (например, связывающее PD-1 средство, такое как TSR-042), вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1000 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1 (например, связывающее PD-1 средство, такое как TSR-042), вводят субъекту один раз в неделю (Q1W), один раз в две недели (Q2W), один раз в три недели (Q3W), один раз в четыре недели (Q4W), один раз в пять недель (Q5W), один раз в шесть недель (Q6W), один раз в семь недель (Q7W) или один раз в восемь недель (Q8W). В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1 (например, связывающее PD-1 средство, такое как TSR-042), вводят субъекту один раз в три недели (Q3W). В вариантах осуществления средство, воздействующее на PD-1 (например, связывающее PD-1 средство, такое как TSR-042), вводят субъекту один раз в шесть недель (Q6W).

В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3 (например, связывающее TIM-3 средство, такое как TSR-022), вводят в постоянной дозе, составляющей не более чем приблизительно 1200 мг или не более чем приблизительно 900 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3 (например, связывающее TIM-3 средство, такое как TSR-022), вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 300 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3 (например, связывающее TIM-3 средство, такое как TSR-022), вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 100 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3 (например, связывающее TIM-3 средство, такое как TSR-022), вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 900 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3 (например, связывающее TIM-3 средство, такое как TSR-022), вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1200 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3 (например, связывающее TIM-3 средство, такое как TSR-022), вводят субъекту один раз в неделю (Q1W), один раз в две недели (Q2W), один раз в три недели (Q3W), один раз в четыре недели (Q4W), один раз в пять недель (Q5W), один раз в шесть недель (Q6W), один раз в семь недель (Q7W) или один раз в восемь недель (Q8W). В вариантах осуществления средство, воздействующее на TIM-3 (например, связывающее TIM-3 средство, такое как TSR-022), вводят субъекту один раз в три недели (Q3W).

Средство, воздействующее на LAG-3, можно вводить в любой дозе или согласно схеме введения дозы, описанной в настоящем документе.

В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, вводят в постоянной дозе, составляющей не более чем приблизительно 2500 мг, приблизительно 2000 мг или приблизительно 1500 мг. В вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение средства, воздействующего на LAG-3, в дозе, составляющей приблизительно 20 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 720 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 1500 мг, приблизительно 1800 мг, приблизительно 2100 мг, приблизительно 2200 мг или приблизительно 2500 мг. В некоторых вариантах осуществления

во, воздействующее на TIM-3 (например, связывающее TIM-3 средство, такое как TSR-022), вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 300 мг.

В вариантах осуществления способ включает введение средства, воздействующего на PD-1 (например, связывающего PD-1 средства, такого как TSR-042), в начальной постоянной дозе, составляющей приблизительно 500 мг; средства, воздействующего на TIM-3 (например, связывающего TIM-3 средства, такого как TSR-022), вводимого в начальной постоянной дозе, составляющей приблизительно 300 мг; и средства, воздействующего на LAG-3, вводимого в постоянной дозе, составляющей приблизительно 20 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 720 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 1500 мг, приблизительно 1800 мг, приблизительно 2100 мг, приблизительно 2200 мг или приблизительно 2500 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 20 мг, постоянной дозе, составляющей приблизительно 80 мг, постоянной дозе, составляющей приблизительно 240 мг, или постоянной дозе, составляющей приблизительно 720 мг. В вариантах осуществления средство, воздействующее на LAG-3, вводят в постоянной дозе, составляющей приблизительно 240 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 720 мг, приблизительно 900 мг или приблизительно 1000 мг. В вариантах осуществления введение каждого из средства, воздействующего на PD-1, средства, воздействующего на TIM-3 и средства, воздействующего на LAG-3, осуществляют один раз в три недели (Q3W). В вариантах осуществления средство, направленное против LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий CDR-H1, определенную под SEQ ID NO: 5; CDR-H2, определенную под SEQ ID NO: 6; CDR-H3, определенную под SEQ ID NO: 7; CDR-L1, определенную под SEQ ID NO: 8; CDR-L2, определенную под SEQ ID NO: 9; и CDR-L3, определенную под SEQ ID NO: 10. В вариантах осуществления средство, направленное против LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий аминокислотную последовательность варибельной области тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3; и аминокислотную последовательность варибельной области легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4. В вариантах осуществления средство, направленное против LAG-3, представляет собой полипептид, содержащий полипептидную последовательность тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 21; и полипептидную последовательность легкой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 98% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 22. В вариантах осуществления средство, направленное против LAG-3, представляет собой TSR-033.

Такие тройные комбинированные средства терапии можно применять для лечения любого из нарушений, которые чувствительны к подавлению LAG-3 (например, описанных в настоящем документе). Например, эти тройные комбинированные средства терапии можно применять для лечения пациентов, у которых имеется рак, такой как В-крупноклеточная лимфома, тимома, острый миелоидный лейкоз, опухоль яичка, аденокарцинома легкого, немелкоклеточный рак легкого, светлоклеточный рак почки, рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы (TNBC), рак молочной железы, отличный от трижды негативного (отличный от TNBC), рак желудка, плоскоклеточный рак легкого, мезотелиома, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак головы и шеи, меланома, гепатоцеллюлярная карцинома, рак носоглотки, рак пищевода, аденокарцинома толстой кишки, колоректальный рак, карциному прямой кишки, холангиокарцинома, рак эндометрия матки, саркома, рак мочевого пузыря, карциному щитовидной железы, папиллярный рак почки, мультиформная глиобластома, рак печени, карциносаркома матки, феохромоцитомы, высокодифференцированная глиома, хромофобный почечноклеточный рак, рак надпочечника или увеальная меланома.

Ингибиторы PARP.

В вариантах осуществления дополнительное средство терапии представляет собой ингибитор поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP).

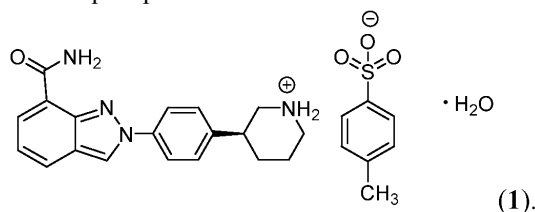
В вариантах осуществления ингибитор PARP ингибирует PARP-1 и/или PARP-2. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В родственных вариантах осуществления средство представляет собой ABT-767, AZD 2461, BGB-290, BGP 15, CEP 8983, CEP 9722, DR 2313, E7016, E7449, флузопариб (SHR 3162), IMP 4297, INO1001, JPI 289, JPI 547, конъюгат моноклональное антитело B3-LysPE40, MP 124, нирапариб (ZEJULA) (МК-4827), NU 1025, NU 1064, NU 1076, NU1085, олапариб (AZD2281), ONO2231, PD 128763, R 503, R554, рукапариб (RUBRACA) (AG-014699, PF-01367338), SBP 101, SC 101914, симмипариб, талазопариб (BMN-673), велипариб (ABT-888), WW 46, 2-(4-(трифторметил)фенил)-7,8-дигидро-5Н-тиопирано[4,3-d]пиримидин-4-ол и его соли или производные. В некоторых связанных вариантах осуществления средство представляет собой нирапариб, олапариб, рукапариб, талазопариб, велипариб или их соли или производные. В определенных вариантах осуществления средство представляет собой нирапариб или его соль или производное. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой олапариб или его соль или производное. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой рукапариб или его соль или производное. В некото-

рых вариантах осуществления средство представляет собой талазопариб или его соль или производное. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой велипариб или его соль или производное.

Нирапариб, (3S)-3-[4-{7-(аминокарбонил)-2H-индазол-2-ил}фенил]пиперидин, представляет собой доступный при пероральном приеме сильный ингибитор поли(аденозиндифосфат[ADP]-рибоза)полимеразы (PARP)-1 и -2. См. WO 2008/084261 (опубликованную 17 июля 2008 года), WO 2009/087381 (опубликованную 16 июля 2009 года) и PCT/US17/40039 (поданную 29 июня 2017 года), каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей полноте. Нирапариб может быть получен в соответствии со схемой 1 из WO 2008/084261.

В некоторых вариантах осуществления нирапариб может быть получен в виде фармацевтически приемлемой соли. Специалисту в данной области техники будет понятно, что такие формы соли могут существовать в виде сольватированных или гидратированных полиморфных форм. В некоторых вариантах осуществления нирапариб получен в форме гидрата.

В определенных вариантах осуществления нирапариб получен в форме тозилатной соли. В некоторых вариантах осуществления нирапариб получен в форме моногидрата тозилата. Молекулярная структура моногидратной соли тозилата нирапароба показана ниже:



Нирапариб является сильным и селективным ингибитором PARP-1 и PARP-2 с концентрацией, обеспечивающей 50% подавление от контроля (IC_{50}) = 3,8 и 2,1 нМ соответственно, и его селективность является по меньшей мере в 100 раз выше по сравнению с другими представителями семейства PARP. Нирапариб подавляет активность PARP, стимулированную в результате повреждения ДНК, вызванного добавлением перекиси водорода, в различных линиях клеток при IC_{50} и концентрации, обеспечивающей 90% подавление от контроля (IC_{90}), составляющими приблизительно 4 и 50 нМ соответственно.

В вариантах осуществления нирапариб вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 100 мг свободного основания нирапароба (например, фармацевтически приемлемую соль нирапароба, такую как моногидрат тозилата нирапароба, вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 100 мг свободного основания нирапароба). В вариантах осуществления нирапариб вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 200 мг свободного основания нирапароба (например, фармацевтически приемлемую соль нирапароба, такую как моногидрат тозилата нирапароба, вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 200 мг свободного основания нирапароба). В вариантах осуществления нирапариб вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 300 мг свободного основания нирапароба (например, фармацевтически приемлемую соль нирапароба, такую как моногидрат тозилата нирапароба, вводят в дозе, эквивалентной приблизительно 300 мг свободного основания нирапароба).

Изделия промышленного производства.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено изделие промышленного производства, содержащее материалы, применимые для лечения, предупреждения и/или диагностики нарушений, описанных выше. Изделие промышленного производства может содержать контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку на контейнере или связанный с контейнером. Подходящие контейнеры могут включать, например, бутылки, флаконы, шприцы, пакеты для IV растворов и т.д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер может содержать композицию, которая сама по себе или в комбинации с другой композицией эффективна для лечения, предупреждения и/или диагностики состояния и может иметь стерильное отверстие для доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой с помощью иглы для подкожных инъекций). По меньшей мере одно активное средство в композиции может представлять собой антитело по настоящему изобретению. Этикетка или вкладыш в упаковку могут указывать на то, что композиция используется для лечения выбранного состояния. Кроме того, изделие промышленного производства может содержать (а) первый контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция содержит антитело по настоящему изобретению; и (б) второй контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция содержит дополнительное цитотоксическое или иное терапевтическое средство. Изделие промышленного производства в этом варианте осуществления настоящего изобретения может дополнительно содержать вкладыш в упаковку, указывающий, что данные композиции можно использовать для лечения конкретного состояния. Альтернативно (или дополнительно), изделие промышленного производства может дополнительно содержать второй (или третий) контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWI), фосфатно-буферный солевой раствор, раствор Рингера и раствор декстрозы. Кроме того, он может включать другие материалы, необходимые с коммерческой и пользовательской точек зрения, вклю-

чая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы.

В настоящем изобретении также предусмотрены выделенные последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды для средств на основе антитела к LAG-3 и их компонентов. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует средство на основе антитела к LAG-3 или его компонент. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует тяжелую цепь и/или легкую цепь средства на основе антитела к LAG-3. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует полипептид тяжелой цепи из SEQ ID NO: 1 или 21. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует полипептид легкой цепи из SEQ ID NO: 2 или 22. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует переменный домен тяжелой цепи из SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует переменный домен легкой цепи из SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует переменный домен тяжелой цепи, который содержит 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 5-7. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует переменный домен тяжелой цепи, который содержит 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 8-10.

Перечень последовательностей

SEQ ID NO: 1 - полноразмерная аминокислотная последовательность тяжелой цепи с сигнальной последовательностью. Подчеркнутая, не выделенная жирным шрифтом последовательность идентифицирует сигнальную последовательность, выделенная курсивом последовательность идентифицирует константный домен HC γ 4 IgG, причем стабилизирующая мутация с заменой серина на пролин показана жирным шрифтом без подчеркивания, заштрихованная последовательность идентифицирует шарнирную область, и сайт гликозилирования (N291) выделен жирным шрифтом и подчеркиванием.

MDWTWRILFLVAAATGAHSEVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFSIKDD

YHWWVQAPGKGLEWMGWIDAMNDDSQYSSKFQGRVTITVDTSTNTAYMKLSSL
RSEDTAVYYCTYAFGGYWGQTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKYTCNVDPKPSN
TKVDKRVESKYPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
SSIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSFCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 2 - полноразмерная аминокислотная последовательность легкой цепи с сигнальной последовательностью. Подчеркнутая, не выделенная жирным шрифтом последовательность идентифицирует сигнальную последовательность, а выделенная курсивом последовательность идентифицирует константный домен LC IgG.

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLV

HSDSNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYLVSNRFSVGPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGQYVFCSQSTHVPYAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYF
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 3 - аминокислотная последовательность переменной области тяжелой цепи

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFSIKDDYHWWVQAPGKGLEWMGWI

DAMNDDSQYSSKFQGRVTITVDTSTNTAYMKLSSLRSEDTAVYYCTYAFGGYWG
QTTVTVSS

SEQ ID NO: 4 - аминокислотная последовательность переменной области легкой цепи

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHSDSNTYLHWYLQKPGQSPQLLIY

LVSNRFSVGPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGQYVFCSQSTHVPYAFGGGTKVEI

К

Под SEQ ID NO: 5-7 - аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи соответственно

SEQ ID NO: 5 - DDYIH

SEQ ID NO: 6 - WIDAMNDDSQYSSKFQG

SEQ ID NO: 7 - AFGGY

Под SEQ ID NO: 8-10 - аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи соответственно

SEQ ID NO: 8 - RSSQSLVHSDSNTYLH

SEQ ID NO: 9 - LVSNRFS

SEQ ID NO: 10 - GQSTHVPYA

SEQ ID NO: 11 - полноразмерная кодирующая последовательность тяжелой цепи (от 5' к 3') с сигнальной последовательностью

ATGGACTGGACCTGGAGGATCCTCTTCTTGGTGGCAGCAGCCACAGGTGC
CCACTCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCG
 CCACCGTGAAGATCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTTCAGCATCAAGGACGACTACA
 TCCACTGGGTGCAGCAGGCCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATC
 GACGCCATGAACGACGACTCCCAGTACTCCAGCAAGTTCAGGGCAGGGTGAC
 AATCACCGTGGACACCTCCACCAACACCGCTACATGAAGCTGTCCTCCCTGGC
 GTCCGAGGATACCGCGTGTACTACTGCACCTACGCCTTCGGCGGATACTGGGG
 CCAGGGCACCACAGTGACCGTGTCTCCGCTAGCACCAAGGGCCATCCGTCTT
 CCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTG
 CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTTCAGGCGC
 CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTA
 CTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTA
 CACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTG
 AGTCCAAATATGGTCCCCATGCCACCATGCCAGCACCTGAGTTCTTGGGGG
 GACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAACCAAGGACACTTCTCATGATCTCCC
 GGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAG
 GTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
 GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCGT
 CCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACA
 AAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
 CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAA
 CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT
 GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCG
 TGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGA
 GCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC
 ACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

SEQ ID NO: 12 - полноразмерная кодирующая последовательность легкой цепи (от 5' к 3') с сигнальной последовательностью

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTACTCTGGCT
CCGAGGTGCCAGATGTGACATCGTGATGACCCAGACACCCCTGTCCCTGTCCGT
 GACACCTGGACAGCCCGCTCCATCTCCTGCAGGTCTCCAGTCCCTGGTGCA
 CTCCGACTCCAACACCTACCTCCACTGGTACCTGCAGAAGCCTGGCCAGTCCCC
 CCAGCTGCTGATCTACCTGGTGTCCAACCGGTTACGCGGCGTGCCTGACAGGT
 CAGCGGAAGCGGCTCCGGCACCGACTTACCCTGAAGATCTCCAGGGTGGAGG
 CCGAGGATGTGGGCGTGTACTTCTGCGGCCAGTCCACCCACGTGCCCTATGCTT
 TCGGCGGCGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCT
 TCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTG
 CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATA
 ACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
 GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA
 GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGT
 CACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTGTA

SEQ ID NO: 13 - кодирующая последовательность варибельной области тяжелой цепи (от 5' к 3')

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCCA
 CCGTGAAGATCTCTGCAAGGCCTCCGGCTTCAGCATCAAGGACGACTACATCC
 ACTGGGTGCAGCAGGCCCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATCGAC
 GCCATGAACGACGACTCCCAGTACTCCAGCAAGTCCAGGGCAGGGTGACAAT
 CACCGTGGACACCTCCACCAACACCGCCTACATGAAGCTGTCCTCCCTGCGGTC
 CGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCACCTACGCCTTCGGCGGATACTGGGGCCA
 GGGCACACAGTGACCGTGTCTCC

SEQ ID NO: 14 - кодирующая последовательность варибельной области легкой цепи (от 5' к 3')

GACATCGTGATGACCCAGACACCCCTGTCCCTGTCCGTGACACCTGGACA
 GCCCCCTCCATCTCTGCAGGTCCTCCAGTCCCTGGTGCACCTCCGACTCCAAC
 ACCTACCTCCACTGGTACCTGCAGAAGCCTGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATC
 TACCTGGTGTCCAACCGGTTACGCGCGTGCCTGACAGGTTACGCGGAAGCGGC
 TCCGGCACCGACTTACCCTGAAGATCTCCAGGGTGGAGGCCGAGGATGTGGG
 CGTGTACTTCTGCGGCCAGTCCACCCACGTGCCCTATGCTTTCGGCGGCGGCAC
 CAAGGTGGAGATCAAG

Под SEQ ID NO: 15-17 - кодирующие последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи (от 5' к 3') соответственно

SEQ ID NO: 15 - GACGACTACATCCAC

SEQ ID NO: 16 - TGGATCGACCCATGAACGACGACTCCCAGTACTCCAGCAAGTCCAGGGC

SEQ ID NO: 17 - GCCTTCGGCGGATAC

Под SEQ ID NO: 18-20 - кодирующие последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи (от 5' к 3') соответственно

SEQ ID NO: 18 - AGGTCCTCCAGTCCCTGGTGCACCTCCGACTCCAACACCTACCTCCAC

SEQ ID NO: 19 - CTGGTGTCCAACCGGTTACAGC

SEQ ID NO: 20 - GGCCAGTCCACCCACGTGCCCTATGCT

SEQ ID NO: 21 - последовательность тяжелой цепи без сигнального пептида

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFSIKDDYIHVWVQQAPGKGLEWMGWI

DAMNDDSQYSSKFQGRVTITVDTSTNTAYMKLSSLRSEDTAVYYCTYAFGGYWG

QGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS

GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGP

PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDG

VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI

KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 22 - последовательность легкой цепи без сигнального пептида

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHSDSNTYLHWYLQKPGQSPQLLIY

LVSNRFGVDPDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGVYFCGQSTHVPYAFGGGTKVEI

KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES

VTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 23 - варибельный домен тяжелой цепи средства на основе антитела к PD-1

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSTIS

GGGSYTYQQDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYAMDYW

GQGTITVTVSSA

SEQ ID NO: 24 - варибельный домен легкой цепи средства на основе антитела к PD-1

DIQLTQSPSFLSAYVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQKPKGAPKLLIYWAS

TLHTGVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQHYSSYPWTFGQGTKLEIKR

Последовательности CDR средства на основе антитела к PD-1

HC – CDR1	GFTFSSYDMS	SEQ ID NO: 25
HC – CDR2	TISGGGSYTY	SEQ ID NO: 26
HC – CDR3	PYYAMDY	SEQ ID NO: 27
LC – CDR1	KASQDVGTAVA	SEQ ID NO: 28
LC – CDR2	WASTLHT	SEQ ID NO: 29
LC – CDR3	QHYSYPWT	SEQ ID NO: 30

Полипептид тяжелой цепи антитела к TIM-3 (SEQ ID NO: 31)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLDWVST
ISGGGTYYTYQDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASMDYWGQ
GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPP
CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDG
EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK

Полипептид легкой цепи антитела к TIM-3 (SEQ ID NO: 32)

DIQMSPSSLSASVGDRTITCRASQSIRRYLNWYHQKPGKAPKLLIYGASTL
QSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFVYYCQQSHSAPLTFGGGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYQKQVQWVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Последовательности CDR средства на основе антитела к TIM-3

HC – CDR1	GFTFSSYDMS	SEQ ID NO: 33
HC – CDR2	TISGGGTYYTYQDSVKG	SEQ ID NO: 34
HC – CDR3	MDY	SEQ ID NO: 35
LC – CDR1	RASQSIRRYLN	SEQ ID NO: 36
LC – CDR2	GASTLQS	SEQ ID NO: 37
LC – CDR3	QQSHSAPLT	SEQ ID NO: 38

Полипептид тяжелой цепи антитела к PD-1 SEQ ID NO: 39 (последовательности CDR)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSTIS
GGGSYTYTYQDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYYYAMDY
GQGTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK

Полипептид легкой цепи антитела к PD-1 SEQ ID NO: 40 (последовательности CDR)

DIQLTQSPSFLSAVYGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWAS
TLHTGVPSPRFRSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQHYSYPWTFGGGTKLEIKRTV
AAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYQKQVQWVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Примеры

Пример 1. Анализ дисульфидных связей в TSR-033.

В этом примере описан анализ дисульфидных связей иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 TSR-033, содержащего тяжелую цепь под SEQ ID NO: 21 и легкую цепь под SEQ ID NO: 22. Аминокислотные остатки, упомянутые в каждом примере, пронумерованы в соответствии с SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22.

Пептиды, расщепленные с помощью Lys-C и трипсина, тщательно отделяли и выявляли с помощью анализа LC-MS в режиме реального времени. Связи, представляющие собой дисульфидные соединения, подтверждали путем сравнения общих ионных хроматограмм в невозстанавливающих (NR) условиях и восстанавливающих условиях. Расщепление с помощью Lys-C и трипсина дало восемь содержащих дисульфидную связь (DS1-DS8) пептидов. Все они были подтверждены с помощью точных масс при невозстанавливающих условиях, что дополнительно подтверждалось истощением этих пептидов путем восстановления. Из-за неполного расщепления было обнаружено девять пептидов с двумя формами DS5

(DS5a и DS5b), и в одном пептиде была показана уникальная шарнирная область с двумя межцепочечными дисульфидными связями (DS6). Идентифицировали межцепочечные и внутрицепочечные дисульфидные связи, и иллюстративные варианты расположения дисульфидных связей показаны в табл. 9.

Таблица 9. Иллюстративные варианты расположения дисульфидных связей в случае антитела к LAG-3

№ дисульфидной связи	Пептиды, содержащие дисульфидные связи	Сайты связи в HC без сигнальной последовательности (SEQ ID NO:21) и LC без сигнальной последовательности (SEQ ID NO:22)	Сайт связи в HC с сигнальной последовательностью (положение в SEQ ID NO:1)	Сайт связи в LC с сигнальной последовательностью (положение в SEQ ID NO:2)
DS1	DIVMTQTPLSLSV TPGQP ASISCR=VEAEDV GVYFC GQSTHVPYAFGG GTK	LC23-LC93		45 115
DS2	SGTASVVCLLNN FYPR=V YACEVTHQGLSS PVTK	LC139-LC199		161 221
DS3	GEC=GPSVFPLAP CSR	LC219-HC128	147	241
DS4	ISCK=SEDTAVYY CTYAF GGYWGQGTTVT VSSAST K	HC22-HC96	41 115	
DS5a	STSESTAALGCL VK=TYT CNVDHK	HC141-HC197	160 216	
DS5b	STSESTAALGCL VK=TYT CNVDHKPSNTK	HC141-HC197		
DS6	YGPPCPPCPAPE FLGGPS VFLFPPK=YGPPC PPCPAP EFLGGPSVFLFPP K	HC220-HC220 и HC223-HC223	239 242	
DS7	TPEVTCVVVDVS QEDPEV QFNWYVDGVEV HNAK= CK	HC255-HC315	274 334	
DS8	NQVSLTCLVK=W QEGNV FSCSVMHEALHN HYTQK	HC361-HC419	380 438	

LC: легкая цепь; HC: тяжелая цепь.

Двенадцать (12) внутрицепочечных дисульфидных связей и четыре (4) межцепочечные дисульфидные связи иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 показаны на фиг. 11.

Пример 2. Получение профилей N-гликанов в TSR-033.

В этом примере описано получение профилей N-гликанов для характеристики иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 TSR-033, содержащего тяжелую цепь SEQ ID NO: 21 и легкую цепь SEQ ID NO: 22. Определяли относительное содержание видов гликанов в препарате этого иллюстративного антитела к LAG-3, культивируемого в клетках яичника китайского хомячка (CHO). Это иллюстративное антитело к LAG-3 демонстрирует занятый сайт N-гликозилирования, и выраженное N-гликозилирование в этом сайте представляет собой смесь разновидностей олигосахаридов, обычно наблюдаемых на IgG, экспрессируемых в культуре клеток млекопитающих.

Например, N-гликаны высвобождали с помощью PNGазы F и метили с помощью 2-AB с последующим разделением с помощью HILIC и обнаружением флуоресценции (FLD).

Сайт гликозилирования антитела к LAG-3 находится по N291 тяжелой цепи.

Иллюстративные анализы N-гликанов для двух иллюстративных партий средства на основе антитела к LAG-3 показаны в табл. 10. Как показано в табл. 3, обнаруженные гликаны включают G0F, G1F, G2F и Man-5, а также другие разновидности олигосахаридов.

Таблица 10. Анализ N-гликанов иллюстративных партий средства на основе антитела к LAG-3

Вид	Партия 1*	Партия 2*
G0F	62,3%	70,2%
G1F	21,6%	14,3%
G2F	4,0%	2,1%
Man-5	3,7%	4,5%
Другие виды	8,4%	8,9%

* Количества относятся к процентной доле от суммарных N-связанных олигосахаридов.

Пример 3. Исследования связывания с использованием TSR-033.

Связывание TSR-033 с рекомбинантным растворимым или экспрессированным на клеточной поверхности LAG-3.

В этом примере описано получение характеристик аффинности связывания иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 TSR-033, содержащего тяжелую цепь SEQ ID NO: 21 и легкую цепь SEQ ID NO: 22.

Поверхностный плазмонный резонанс (SPR) применяли для оценки связывания иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 либо с рекомбинантным растворимым, или с экспрессированным на клеточной поверхности LAG-3 человека и яванского макака (супо) (табл. 11), и с SEB-стимулированными человеческими донорскими мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC) (фиг. 2). Таким образом, иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 способно прочно связываться как с растворимым LAG-3, так и с LAG-3, экспрессируемым на клеточной поверхности.

Таблица 11. Связывание иллюстративного антитела к LAG-3 с рекомбинантным LAG-3

Вид	Кинетические параметры (SPR) растворимого LAG-3			Клетки CHO, экспрессирующие LAG-3
	$K_{ассоц.} (мс)^{-1}$	$K_{диссоц.} (с)^{-1}$	$K_D (нМ)$	$EC_{50} (нМ)$
LAG-3 человека	$1,3 \times 10^5$	$1,3 \times 10^{-4}$	0,95	0,8
LAG-3 супо	$1,1 \times 10^5$	$2,6 \times 10^{-4}$	2,0	2,6

CHO = яичник китайского хомячка; EC_{50} = полумаксимальная эффективная концентрация; $K_{ассоц.}$ = константа скорости ассоциации; $K_{диссоц.}$ = константа скорости диссоциации; K_D = константа равновесия; SPR = поверхностный плазмонный резонанс.

Конкурентные исследования лигандов.

В этом примере описана способность иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 TSR-033 конкурировать с рецептором за связывание лиганда. В частности, в этом примере применяют клетки Daudi, которые экспрессируют высокие уровни эндогенного MHC класса II и широко используются для характеристики связывания LAG-3:MHC класса II. (Huard et al. Proc Natl Acad Sci. 1997;94:5744-5749). Как показано на фиг. 3А, иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 является сильным антагонистом этого взаимодействия, что определено с помощью анализа проточной цитометрии, в котором измеряют способность иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 нарушать связывание меченного DyLight 650 (DyL650) слитого белка LAG-3 с этими клетками.

TSR-033 блокирует связывание LAG-3/MHC-II, оцененное с помощью анализа LAG-3 с репортерным геном.

В этом примере описана способность иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 TSR-033 блокировать связывание LAG-3/MHC-II, оцененное с помощью анализа LAG-3 с репортерным геном (фиг. 3В). В частности, в этом примере применяют клетки Raji, которые экспрессируют высокие уровни эндогенного MHC класса II. Как показано на фиг. 3С и в соответствии с приведенным выше экспериментом, в отличие от изотипического контроля (треугольники), иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 является сильным антагонистом этого взаимодействия, что определено с помощью анализа с репортерным геном, в котором измеряют способность иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 (кружки) нарушать связывание LAG-3, экспрессируемого на клетках Jurkat, с клетками Raji, экспрессирующими MHC класса II, с применением считывания данных репортерного гена NFAT.

Пример 4. Активация первичных человеческих Т-клеток in vitro с помощью TSR-033.

В этом примере описана способность иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 активировать первичные человеческие Т-клетки in vitro. В частности, в этом примере оценивали иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 TSR-033 в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR). В этом анализе MLR первичные человеческие CD4+ Т-клетки смешивали с дендритными клетками моноцитарного происхождения от другого донора. В этих исследованиях дендритные клетки и аллогенные CD4+ Т-клетки инкубировали в присутствии иллюстративного средства на основе антитела к

LAG-3 или изотипического контроля в течение 48 ч, а активацию Т-клеток определяли путем измерения уровня секреции интерлейкина-2 (IL-2). Как показано на фиг. 4, иллюстративное средство на основе антитела к LAG-3 дозозависимым образом увеличивало продуцирование IL-2. Более того, этот эффект дополнительно усиливали с помощью комбинации с антителом к PD-1 в концентрации 2 или 20 нг/мл. Эти данные демонстрируют, что блокирование LAG-3 с помощью иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 отдельно или в комбинации со средством, воздействующим на PD-1, может приводить к мощному усилению активации Т-клеток (фиг. 4).

Пример 5. Модулирование высвобождения цитокинов с помощью TSR-033.

В этом примере описана способность иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 TSR-033 модулировать высвобождение цитокинов из SEB-активированных Т-клеток *in vitro*. Конкретно, человеческие PBMC (от 5 доноров) стимулировали с помощью 100 нг/мл SEB в течение 3 дней, а затем оценивали индуцирование IL-2. В этих исследованиях было обнаружено, что обработка иллюстративным средством на основе антитела к LAG-3 дозозависимым образом увеличивала продуцирование IL-2. Кроме того, двойная блокада LAG-3 и PD-1 путем обработки как иллюстративным средством на основе антитела к LAG-3, так и иллюстративным средством на основе антитела к PD-1 TSR-042 приводила к большей индукции продуцирования IL-2, чем любое средство отдельно (фиг. 5).

Пример 6. Средство монотерапии с применением антител к LAG-3 и комбинированное средство терапии с применением антител к PD-1 и к TIM-3 в модели ксенотрансплантатной опухоли *in vivo*.

В этом примере описана характеристика иллюстративного легкодоступного средства на основе антитела к LAG-3 C9B7W (антитела к мышинному LAG-3), отдельно или в комбинации с иллюстративным легкодоступным средством на основе антитела к PD-1 RMP1-14 (антителом к мышинному PD-1) в модели ксенотрансплантатной опухоли *in vivo*. В частности, клетки лимфомы A20 (мышинная линия DLBCL; 200 000 клеток на мышь) подкожно имплантировали мышам Balb/c и выращивали опухоли до 30-50 мм до рандомизации (n=10 на группу) для обработки. Обработку проводили с помощью изотипического контроля, иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3, иллюстративного средства на основе антитела к PD-1 или комбинации средств, направленных против LAG-3 и PD-1. Дозировка для каждого составляла 10 мг/кг два раза в неделю.

Двойная блокада PD-1 и LAG-3 продемонстрировала дополнительную потенцированную противоопухолевую активность по сравнению со средством монотерапии, направленным против PD-1. Как показано на фиг. 6, блокада LAG-3 имела сильное синергетическое действие со средством, направленным на PD-1, в отношении подавления роста опухоли (коэффициент взаимодействия лекарственных средств CDI = 0,25).

Из этих мышей с ксенотрансплантатом на 36-й день n=4 на группу умерщвляли и оценивали фармакодинамические изменения иммунных клеток в селезенке. Наблюдали показатели значительного увеличения пролиферирующих Т-клеток в селезенке животных в комбинированной группе по сравнению со средством, направленным против PD-1, что согласовалось с усиленной иммуностимуляцией (**p<0,01; ANOVA). См. фиг. 7.

Выживших животных в каждой группе (n=4 для средства, воздействующего на PD-1, и n=6 для средства, воздействующего на PD1, + средство, воздействующее на LAG-3) контролировали в отношении выживаемости без опухоли в течение 40 дней с последующим повторным воздействием с помощью клеток лимфомы A20 (200000 на мышь). В соответствии с развитием иммунологической памяти повторный рост опухоли не наблюдали ни в группе средства, направленного против PD-1, ни в комбинированной группе (см. фиг. 8), хотя значительно более высокую долю интерферон-гамма-положительных (IFN γ +) CD8 Т-клеток в селезенке наблюдали в комбинированной группе.

Таким образом, эти эксперименты демонстрируют, что обработка с помощью средства, направленного против LAG-3, в комбинации с обработкой с помощью средства, направленного против PD-1, может надежно подавлять рост опухоли и индуцировать иммуностимуляцию. Кроме того, эта комбинированная обработка обеспечивает возникновение иммунологической памяти у обработанных субъектов.

Пример 7. Средство монотерапии с применением TSR-033 и комбинированное средство терапии с применением иллюстративных антител к LAG-3 и к PD-1 в модели истощения Т-клеток *in vitro*.

В этом примере описана характеристика иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 C9B7W (антитела к мышинному LAG-3) отдельно или в комбинации с иллюстративным средством на основе антитела к PD-1 RMP1-14 (антителом к мышинному PD-1) в мышинной модели истощения Т-клеток *in vitro*. В частности, Т-клетки, трансгенные по рецептору CD4 Т-клеток, стимулировали *in vitro* суперагонистическим измененным пептидным лигандом, что приводит к истощению фенотипа. Этот истощенный фенотип характеризуется повышенной экспрессией PD-1 и LAG-3 (фиг. 9A).

Более того, в отличие от средства отдельно (данные не показаны) или изотипического контроля, комбинация блокады PD-1 и LAG-3 могла в значительной степени увеличить продуцирование IFN γ в этой системе (фиг. 9B).

Таким образом, после описания по меньшей мере некоторых аспектов и вариантов осуществления настоящего изобретения, должно быть понятно, что различные изменения, модификации и улучшения

будут очевидны для специалистов в данной области техники. Подразумевается, что такие изменения, модификации и улучшения являются частью настоящего изобретения, и подразумевается, что они находятся в пределах сущности и объема настоящего изобретения. Соответственно, вышеприведенное описание и графические материалы приведены только в качестве примера, а настоящее изобретение более подробно описано в следующей формуле изобретения.

Пример 8. Клинические исследования средства терапии, направленного против LAG-3, с помощью TSR-033, двойной блокады с использованием TSR-033 и TSR-042 и тройной блокады с использованием TSR-033, TSR-042 и TSR-022.

Клинические исследования средства монотерапии на основе TSR-033 и комбинированного средства терапии на основе TSR-033/TSR-042.

Клиническое исследование в отношении людей выполняли либо с использованием антитела к LAG-3 TSR-033 в качестве средства монотерапии, либо с использованием комбинации антитела к LAG-3 TSR-033 и антитела к PD-1 TSR-042.

Схема построения этих исследований представлена на фиг. 10A.

Пациентов с одним или более из следующих типов опухолей рассматривали для включения в исследование: солидные опухоли, солидные опухоли на поздней стадии, эпителиальный рак яичника (EOC), трижды негативный рак молочной железы (TNBC), уротелиальная карцинома (UC) после лечения средствами, направленными против PD-1/PD-L1, и UC, не подвергнутая лечению средствами, направленными против PD-1/L1.

Основные задачи этого исследования включают оценку противоопухолевой активности средства, направленного против LAG-3, в качестве средства монотерапии и комбинированного средства терапии со средством, направленным против PD-1, у пациентов с солидными опухолями; определение рекомендуемой дозы и графика для средства, направленного против LAG-3, в качестве средства монотерапии и комбинированного средства терапии со средством, направленным против PD-1; а также оценку безопасности и переносимости средства, направленного против LAG-3, в качестве средства монотерапии и в качестве комбинированного средства терапии со средством, направленным против PD-1.

Исследования степени занятости рецепторов TSR-033.

Анализ прямого связывания применяли для измерения связывания иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 TSR-033 в образцах от пациентов. Степень занятости рецепторов (RO) выражается как отношение связанного TSR-033 к общему LAG-3 и его нормализовали относительно исходного уровня (до введения дозы) для каждого пациента.

PBMC выделяли из свежих образцов цельной крови пациентов и обрабатывали либо изотипическим контролем, либо TSR-033 в насыщающих концентрациях (оба при 50 мкг/мл), а затем смесью антител для обнаружения: (1) вторичное антитело к IgG4 человека (для связанного TSR-033) (2) антитело к LAG-3 человека, которое не конкурирует перекрестно с TSR-033 (для общих уровней LAG-3) и (3) смесь антител для обнаружения Т-клеток. Отношение TSR-033 к общему LAG-3 на Т-клетках определяли с помощью проточной цитометрии. Аликвоту для насыщения связывания прогоняли параллельно в качестве контроля для оценки диапазона анализа. Схема представлена на фиг. 10B.

На фиг. 10C показана степень занятости рецепторов (RO), измеренная с использованием Т-клеток пациентов. Исходя из этих данных, имеет место повышение занятости мишени, наблюдаемое при увеличении доз. Например, в ранние моменты времени степень занятости рецепторов приближается к насыщению при дозе 240 мг (верхний набор данных) и к приблизительно 50% при дозе 80 мг (средний набор данных). Кроме того, по-видимому, существует значительная корреляция между концентрациями TSR033 в сыворотке крови и степенью занятости рецепторов LAG-3 в данных, собранных до настоящего времени.

Схемы введения доз.

В этом клиническом исследовании в отношении человека оценивали серию увеличивающихся доз средства, направленного против LAG-3, либо отдельно в качестве средства монотерапии, либо в комбинации со средством, направленным против PD-1. Клиническое исследование средства монотерапии в отношении человека включает следующие повышения дозы: 20, 80, 240 и 720 мг/пациент. Также будут оцениваться дозы от 240 до 720 мг/пациент. Например, TSR-033 вводили пациентам в дозах 20, 80 и 240 мг/пациент. Пациентам, получавшим средство монотерапии, направленное против LAG-3, вводили дозу средства, направленного против LAG-3, один раз в 14 дней ± 1 день (Q2W) с помощью внутривенной (IV) инфузии в течение 30 (-5 и +15) мин.

В случае комбинированных средств терапии, предусматривающих средство, направленное против LAG-3, и средство, направленное против PD-1, дозу средства, направленного против PD-1, будут вводить в дозе 500 мг/пациент в комбинации с увеличивающимися дозами средства, направленного против LAG-3, один раз в 21 день ± 1 день (Q3W). Увеличивающиеся дозы в данном исследовании включают 20, 80, 240, 720 и дозы 240-720 мг/пациент.

В табл. 12 также приведены иллюстративные дозы средств, воздействующих на LAG-3 (например, TSR-033), которые вводили по иллюстративным схемам Q2W и Q3W. Иллюстративные дозы в табл.

12 также подходят в качестве доз средства, действующего на LAG-3 (например, TSR-033), в комбинированных средствах терапии (например, средстве терапии с двойной или тройной блокадой).

Таблица 12. Схемы введения доз для иллюстративного средства, действующего на LAG-3, TSR-033

Введение Q2W (один раз в две недели)		Введение Q3W (один раз в три недели)	
Постоянная доза	Доза в пересчете на массу тела	Постоянная доза	Доза в пересчете на массу тела
приблизительно 240 мг	приблизительно 3 мг/кг	приблизительно 500 мг	приблизительно 10 мг/кг
приблизительно 500 мг	приблизительно 10 мг/кг	приблизительно 720 мг	приблизительно 12 мг/кг
приблизительно 720 мг	приблизительно 12 мг/кг	приблизительно 900 мг	приблизительно 15 мг/кг
приблизительно 900 мг	приблизительно 15 мг/кг	приблизительно 1000 мг	приблизительно 20 мг/кг
приблизительно 1000 мг	--	приблизительно 1500 мг	приблизительно 25 мг/кг
приблизительно 1000 мг	--	приблизительно 1800 мг	--
--	--	приблизительно 2100 мг	--
--	--	приблизительно 2200 мг	--
--	--	приблизительно 2500 мг	--

Например, средство, действующее на LAG-3 (например, TSR-033), можно вводить в постоянной дозе, составляющей приблизительно 240 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 720 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 900 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1500 мг, один раз в две недели (Q2W), дозу в расчете на массу тела, составляющую приблизительно 3 мг/кг один раз в две недели (Q2W), дозу в расчете на массу тела, составляющую приблизительно 10 мг/кг один раз в две недели (Q2W), дозу в пересчете на массу тела, составляющую приблизительно 12 мг/кг, один раз в две недели (Q2W), дозу в пересчете на массу тела, составляющую приблизительно 15 мг/кг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 720 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 900 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1500 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1800 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 2100 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 2200 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 2500 мг, один раз в три недели (Q3W), дозе в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 10 мг/кг, один раз в три недели (Q3W), дозе в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 12 мг/кг, один раз в три недели (Q3W), дозе в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 15 мг/кг, один раз в три недели (Q3W), дозе в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 20 мг/кг, один раз в три недели (Q3W) или дозе в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 25 мг/кг, один раз в три недели (Q3W).

Клинические исследования средства терапии с тройной блокадой с использованием TSR-033, TSR-042 и TSR-022.

Средство терапии с тройной блокадой можно исследовать путем введения субъекту средства, действующего на LAG-3, TSR-033, средства, действующего на PD-1, TSR-042 и средства, действующего на TIM-3, TSR-022. Одно или более средств можно вводить согласно схеме Q2W или Q3W, тогда как другое(ие) средство(а) вводят согласно схеме Q6W. Одно или более средств можно первоначально вводить согласно схеме Q2W или Q3W (в начальной дозе) и впоследствии вводить согласно схеме Q3W (в начальной дозе, в более низкой дозе или в более высокой дозе) после 2, 3, 4, 5 или 6 циклов. Например, средство, действующее на PD-1, TSR-042, можно первоначально вводить в дозе 500 мг/пациент согласно схеме Q2W, а затем вводить в дозе 1000 мг/пациент согласно схеме Q6W после 2, 3, 4, 5 или 6 циклов. Данные три средства можно вводить согласно схеме Q2W. Данные три средства можно вводить согласно схеме Q3W. В качестве альтернативы, средство, действующее на PD-1, TSR-042, и средство, действующее на TIM-3, TSR-022, можно вводить согласно схеме Q3W, а средство, действующее на LAG-3, TSR-033, можно вводить согласно схеме Q2W. Средство, действующее на PD-1, TSR-042, можно вводить согласно схеме Q6W, а средство, действующее на LAG-3, TSR-033, и средство, действующее на TIM-3, TSR-022, можно вводить согласно схеме Q2W или Q3W.

TSR-022 и TSR-042 можно вводить согласно любой из схем введения доз в настоящем документе, а TSR-022 и TSR-042 можно вводить согласно схеме Q3W или Q6W.

TSR-033 можно вводить согласно любой из схем введения доз в настоящем документе, включая иллюстративные схемы введения доз из табл. 12. Например, TSR-033 можно вводить как в постоянной дозе, составляющей приблизительно 240 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в три недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 720 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 900 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1500 мг, один раз в две недели (Q2W), дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 3 мг/кг, один раз в две недели (Q2W), дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 10 мг/кг, один раз в две недели (Q2W), дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 12 мг/кг, один раз в две недели (Q2W), дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 15 мг/кг, один раз в две недели (Q2W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 720 мг один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 900 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1500 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 1800 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 2100 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 2200 мг, один раз в три недели (Q3W), в постоянной дозе, составляющей приблизительно 2500 мг, один раз в три недели (Q3W), дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 10 мг/кг, один раз в три недели (Q3W), дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 12 мг/кг, один раз в три недели (Q3W), дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 15 мг/кг, один раз в три недели (Q3W), дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 20 мг/кг, один раз в три недели (Q3W) или дозу в пересчете на массу тела, составляющей приблизительно 25 мг/кг, один раз в три недели (Q3W).

TSR-033 также можно вводить в дозе, составляющей 20 мг/пациент, 80 мг/пациент, 240 мг/пациент, 720 мг/пациент и в промежуточных дозах 240-720 мг/пациент. TSR-033 также можно вводить в дозе, составляющей не более приблизительно 1000 мг/пациент (например, в дозе, составляющей приблизительно 20, 80, 240, 500, 720, 900 или 1000 мг/пациент). Доза TSR-033 может быть меньшей, чем доза, применяемая в случае средства монотерапии на основе TSR-033. Такую дозу можно вводить один раз в две недели (Q2W) или один раз в три недели (Q3W).

Также можно исследовать модификацию дозы (например, возрастание дозы) TSR-022. Например, TSR-022 можно вводить в дозе, составляющей 100, 300, 900 или 1200 мг.

Введение дозы TSR-042 может быть постоянным при 500 или 1000 мг.

Пример 9. Дополнительные исследования, связанные со средством монотерапии, средствами терапии с двойной и тройной блокадой.

Изучали экспрессию PD-1, TIM-3 и LAG-3 на инфильтрирующих опухоль лейкоцитах (TIL), полученных от пациента. Дополнительную оценку функциональной роли двойной или тройной блокады PD-1, TIM-3 и LAG-3 *in vivo* проводили с применением опухолевых моделей у гуманизированных мышей.

Проточную цитометрию применяли для подсчета популяций иммунных клеток в панели образцов опухолей человека, включая немелкоклеточный рак легкого (NSCLC). Гуманизированным мышам NOG-EXL вводили исследуемые антитела после того, как опухоли достигали 80-120 мм³. Антитела вводили интраперитонеально два раза в неделю в дозе 10 мг/кг. Опухоли и селезенки мышей собирали по окончании с последующим иммунофенотипированием Т-клеток и миелоидных клеток.

Кожэкспрессия PD-1, TIM-3 и LAG-3 на многочисленных подгруппах TIL в опухолях человека.

Первичные подвергнутые резекции опухоли от нескольких пациентов с различными видами рака собирали и диссоциировали в суспензии отдельных клеток с применением как ферментативного, так и механического разрушения. Клетки немедленно окрашивали тремя панелями антител, включая маркеры линии для популяций Т-клеток и миелоидных клеток и рецепторов иммунных контрольных точек. См. фиг. 12A-12F. Заметную коэкспрессию PD-1, TIM-3 и LAG-3 обнаружили на инфильтрирующих опухоль клетках, особенно на CD8+ Т-клетках, при немелкоклеточном раке легкого (NSCLC) (фиг. 12A), раке эндометрия (фиг. 12B), почечноклеточном раке (RCC) (фиг. 12C), раке шейки матки (фиг. 12D), раке желудка (фиг. 12E) и колоректальном раке (CRC) (фиг. 12F).

Двойная или тройная экспрессия контрольных точек отмечает дисфункциональные CD8+ Т-клетки.

Первичные подвергнутые резекции опухоли диссоциировали в суспензии отдельных клеток с применением как ферментативного, так и механического разрушения. Клетки немедленно окрашивали тремя панелями антител, включая маркеры линии для популяций Т-клеток и миелоидных клеток, рецепторов иммунных контрольных точек. На фиг. 13A показан иммунный состав инфильтрирующих опухоль лейкоцитов, определенный методом проточной цитометрии с использованием образцов опухолей от пациентов с NSCLC и RCC. На фиг. 13B показаны исследования с применением гранзима В в качестве функционального маркера для Т- и NK-клеток.

Чтобы понять функциональные последствия тройной экспрессии контрольных точек, выделяли и анализировали TIL из первичного EGFR+ NSCLC и обнаружили, что PD-1⁺TIM-3⁺LAG-3⁺ цитотоксические Т-клетки характеризовались нарушением функции в высокой степени, оцененной по статусу гранзима В (фиг. 13С). Первичные подвергнутые резекции опухоли от пациентов с NSCLC диссоциировали и характеризовали CD8⁺ Т-клетки в отношении экспрессии контрольных точек и функционального статуса с применением гранзима В (GrzB) (N=6). Статистические различия обнаруживали с помощью однофакторного дисперсионного анализа с коррекцией на множественные сравнения Холма-Сидака. * p<0,05; **p<0,01; ***p<0,0001. Как показано на фиг. 13С, двойная или тройная экспрессия контрольных точек отмечает CD8⁺ Т-клетки с нарушением функции.

Опухоли NSCLC.

Гуманизированным мышам NOG-EXL (Taconic) подкожно инокулировали линии клеток немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) A549 (фиг. 14А-14G) и контролировали в отношении роста опухоли. Мышей рандомизировали, когда объемы опухолей достигали 80-120 мм³, и обрабатывали следующими исследуемыми антителами интраперитонеально два раза в неделю: изотипический контроль человеческого IgG4 или гуманизированные антитела, нацеливающиеся на PD-1 человека (TSR-042), TIM-3 (TSR-022) и LAG-3 (TSR-033). Антитела к иммунным контрольным точкам вводили либо по отдельности, либо в комбинации в дозе 10 мг/кг, как изображено (n=5-10 животных на группу обработки). Рост опухолей контролировали в течение 30-35 дней. Фиг. 14А относится к обработке изотипическим контролем человеческого IgG4; фиг. 14В относится к обработке TSR-042; фиг. 14С относится к обработке TSR-022; фиг. 14D относится к обработке комбинацией TSR-042 и TSR-022; фиг. 14Е относится к обработке TSR-033; фиг. 14F относится к обработке комбинацией TSR-042 и TSR-033 и фиг. 14G относится к обработке тройной комбинацией TSR-042, TSR-022 и TSR-033.

Опухоли NSCLC собирали у всех животных, оставшихся в исследовании на момент окончания (37-й день после рандомизации), и немедленно обрабатывали. Для получения суспензий отдельных клеток образцы опухолей расщепляли с последующим окрашиванием и иммунофенотипированием с помощью проточной цитометрии с использованием маркеров для Т-клеток и миелоидных клеток. Клетки гейтировали на отдельные живые популяции.

Увеличение TIL и снижение внутриопухолевых Treg при тройной блокаде контрольных точек.

Популяции иммунных клеток для каждой группы обработки нормализовали относительно изотипического контроля. На фиг. 15А показана кратность изменения параметров инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (CD45). На фиг. 15В показана кратность изменения регуляторных Т-клеток (Treg) при идентификации Treg как CD4+FOXP3+. На фиг. 15С показана кратность изменения параметров пролиферирующих Treg, и Ki-67 применяли в качестве маркера для пролиферирующих клеток. Звездочку применяют для идентификации p<0,05 в непарном Т-тесте Стьюдента при сравнении средства на основе α-PD-1 с двойной или тройной комбинацией контрольных точек.

Снижение параметров связанных с опухолью макрофагов (TAM) и увеличение соотношений M1/M2 при двойной или тройной блокаде контрольных точек.

Связанные с опухолью макрофаги (TAMs) идентифицировали как CD11b⁺CD68⁺; TAM M2 как CD11b⁺CD68⁺CD209⁺HLA-DR^{lo/-}; и TAM M1 как CD11b⁺CD68⁺CD209⁺HLA-DR^{hi}. Непарный Т-критерий Стьюдента *p<0,05 применяли для сравнения средства монотерапии на основе α-PD-1 с группами двойной или тройной обработки. См. фиг. 16А (TAM) и 16В (M1/M2).

Комбинация TSR-033 и TSR-042 для противоопухолевой активности *in vivo*.

В этом примере описана способность иллюстративного средства на основе антитела к LAG-3 в комбинации с иллюстративным средством, воздействующим на PD-1, демонстрировать противоопухолевую активность *in vivo*.

Двойная блокада LAG-3 и PD-1 улучшает терапевтическую эффективность и иммунную активацию в гуманизированной мышной модели опухоли NSCLC. Как показано на фиг. 16С, комбинация средства, направленного против LAG-3, со средством, направленным против PD-1 (оба вводят в дозе 10 мг/кг внутривенно два раза в неделю), оказывает аддитивное действие (коэффициент взаимодействия лекарственных средств CDI=1,001) в отношении ограничения роста опухоли у мышей HuNOG-EXL, инокулированных клетками A549.

Мышей рандомизировали при объемах опухоли 80-120 мм³ с последующим введением иммунотерапевтических средств. В скобках указано подавление роста опухоли по окончании для каждой группы обработки. Относительно средства монотерапии, направленного против PD-1, в комбинированная группа имела повышенные показатели инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, внутриопухолевых пролиферирующих Т-клеток, соотношение CD8/Treg и сниженные показатели TAM (непарный Т-критерий Стьюдента) (фиг. 16D). Данные представляют два независимых эксперимента (n=10 на группу обработки) и были нормализованы для кратного изменения относительно изотипического контроля для каждой группы обработки.

Комбинированная обработка также приводила к повышению пролиферации Т-клеток селезенки со значительным увеличением показателей пролиферирующих CD4 Т-клеток, а также CD4 эффекторных

клеток памяти по сравнению с средством монотерапии, направленным против PD-1; показатели пролиферирующих CD8 Т-клеток и CD8 эффекторных клеток памяти также были повышены в комбинированной группе, но эта тенденция не достигла значимости (фиг. 16E).

Дополнительно, стимуляция спленоцитов *ex vivo* форболмиристатацетатом (PMA)/иономицином, общим стимулирующим средством для Т-клеток, приводила к более высоким значениям процентной доли продуцирующих IFN γ и TNF α CD4 Т-клеток у животных, которым вводили комбинированное средство терапии (фиг. 16F), что дает основание предполагать о функциональном повышении Т-клеток в комбинированной группе относительно средства, направленного против PD-1, отдельно.

Опухоли TNBC.

Гуманизированным мышам NOG-EXL (Taconic) подкожно инокулировали линии клеток трижды негативного рака молочной железы (TNBC) MDA-MB436 (фиг. 17A-17G) и контролировали в отношении роста опухоли. Мышей рандомизировали, когда объемы опухолей достигали 80-120 мм³, и обрабатывали следующими исследуемыми антителами интраперитонеально два раза в неделю: изотипический контроль человеческого IgG4 или гуманизированные антитела, нацеливающиеся на PD-1 человека (TSR-042), TIM-3 (TSR-022) и LAG-3 (TSR-033). Антитела к иммунным контрольным точкам вводили либо по отдельности, либо в комбинации в дозе 10 мг/кг, как изображено (n=5-10 животных на группу обработки). Рост опухолей контролировали в течение 30-35 дней. Фиг. 17A относится к обработке изотипическим контролем человеческого IgG4; фиг. 17B относится к обработке TSR-042; фиг. 17C относится к обработке TSR-022; фиг. 17D относится к обработке комбинацией TSR-042 и TSR-022; фиг. 17E относится к обработке TSR-033; фиг. 17F относится к обработке комбинацией TSR-042 и TSR-033 и фиг. 17G относится к обработке тройной комбинацией TSR-042, TSR-022 и TSR-033.

Линия рака молочной железы EMT-6.

На фиг. 18A-18G изображено исследование на мышинной модели сингенной опухоли, где мышам BALB/c сначала инокулировали подкожно клеточные линии рака молочной железы EMT-6, а затем обрабатывали суррогатными исследуемыми антителами, которые вводили интраперитонеально два раза в неделю в дозе 10 мг/кг. Объем опухоли (мм³) измеряли через 0-20 дней после обработки изотипическим контролем (фиг. 18A); антителом к PD-1 (фиг. 18B); антителом к TIM-3 (фиг. 18C); комбинацией средств, направленных против PD-1 и TIM-3 (фиг. 18D); антителом к LAG-3 (фиг. 18E); комбинацией средств, направленных против PD-1 и LAG-3 (фиг. 18F), и комбинацией средства, направленного против PD-1, антитела к TIM-3 и средства, направленного против LAG-3 (фиг. 18G).

Новая основа для выявления форм рака для лечения с помощью средства терапии с тройной блокадой PD-1, TIM-3 и LAG-3 в различной степени экспрессируются при разных формах рака. В этом примере разрабатывали основу для выявления форм рака, при которых терапевтическая польза может быть преимущественно получена в результате тройной блокады PD-1, TIM-3 и LAG-3.

Получали отличительные признаки для определения наличия инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (лимфоидный индекс), инфильтрирующих опухоль миелоидных клеток (миелоидный индекс), интерферона опухоли (интерфероновый индекс), цитокинов опухоли (цитокиновый индекс), а также показателей мутационной нагрузки опухоли (ТМВ) и нарушения гомологичной рекомбинации (мутации гена HRD или HRR). Эти отличительные признаки затем сравнивали в Атласе ракового генома (TCGA) для выявления типов опухолей, которые могут преимущественно отвечать на основании одновременного присутствия нескольких из указанных выше факторов, а также для определения типов опухолей, при которых подгруппа может преимущественно отвечать на основании профиля маркеров.

Для получения отличительных признаков проводили кластеризацию К-средних в отношении комбинированного набора данных из 10000 образцов различных форм рака на уровне генов с использованием диапазона различных k (k = 20, 21, ..., 200). Точный критерий Фишера применяли для получения значения ассоциации канонических путей и термина согласно Генной Онтологии для каждого кластера в случае любого заданного k. Для каждого k рассчитывали совокупные значения p для 20 лучших кластеров. Оптимальное k из 62 отбирали для наименьшего совокупного значения p среди всех k. Среднее значение экспрессии всех генов в каждом кластере применяли в качестве индекса для представления транскрипционного статуса кластера.

На основании данных секвенирования РНК в TCGA было установлено, что геном рака млекопитающего может быть с пользой представлен 62 неперекрывающимися функционально релевантными группами генов (транскрипционными кластерами), внутригрупповой уровень транскриптов которых координированно регулируется среди типов рака. Хотя транскрипционные кластеры идентифицировали с помощью неконтролируемого кластерного анализа, было обнаружено, что гены с известными сходными функциями кластеризовались вместе. Было обнаружено, что транскрипционные кластеры более устойчивы, чем какой-либо один ген, и лучше канонических путей, поскольку их оптимизировали для анализа транскриптома путем неконтролируемой кластеризации без предварительных данных. Такие кластеры могут обеспечить дополнительную информацию по сравнению с каноническими путями.

Идентифицировали по меньшей мере четыре иммунных кластера, названных лимфоидным, миелоидным, интерфероновым и цитокиновым. Лимфоидный кластер обогащен генами, связанными с Т-клетками, В-клетками и НК-клетками; а миелоидный кластер обогащен генами, связанными с макрофа-

гами, нейтрофилами, моноцитами и т.д. И лимфоидный индекс, и миелоидный индекс коррелируют с процентным содержанием лейкоцитов в наборе данных TCGA желудка. Краткое изложение примененных отличительных признаков показано на фиг. 19.

Следующие виды рака определили как имеющие самый высокий лимфоидный индекс: В-крупноклеточная лимфома, тимома, острый миелоидный лейкоз, опухоли яичка, аденокарцинома легкого, светлоклеточный рак почки, трижды негативный рак молочной железы, рак желудка, плоскоклеточный рак легкого и мезотелиома.

Затем выявили виды рака, характеризующиеся высоким лимфоидным индексом и миелоидным индексом. Основными показаниями исходя из этого анализа были В-крупноклеточная лимфома, острый миелоидный лейкоз, светлоклеточный рак почки, аденокарцинома легкого, тимома, опухоли яичка, TNBC молочной железы, мезотелиома, рак поджелудочной железы и плоскоклеточный рак легкого.

Кроме того, выявили виды рака, характеризующиеся высоким лимфоидным, миелоидным, интерфероновым, цитокиновым индексами и мутационной нагрузкой опухоли. Исходя из этого анализа, основными показаниями были аденокарцинома легких, В-крупноклеточная лимфома, плоскоклеточный рак легкого, TNBC молочной железы, светлоклеточный рак почки, рак головы и шеи, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак шейки матки и мезотелиома.

Другим маркером отбора пациентов для иммунотерапии на основе PD-L1 в отношении контрольных точек являются дефекты путей репарации ДНК (Teo et al., 2018, J Clin. Oncology). Чтобы идентифицировать типы опухолей, которые демонстрируют самые высокие уровни лимфоидных, миелоидных, интерфероновых/цитокиновых индексов, наложенных на TMB, и дефекты путей репарации ДНК, разработали измерения HRD и дефектов в генах HRR и оценивали базу данных TCGA. Когда провели данный анализ, основными показаниями были аденокарцинома легкого, плоскоклеточный рак легкого, TNBC молочной железы, рак желудка, рак головы и шеи, В-крупноклеточная лимфома, рак пищевода, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, светлоклеточный рак почки, мезотелиома, меланома, рак мочевого пузыря, аденокарцинома толстой кишки.

В совокупности эти анализы показывают, что опухоли с высоким уровнем отдельных маркеров или наложением нескольких маркеров с большей вероятностью будут реагировать на тройную блокаду контрольных точек PD-1, LAG-3 и TIM-3. Например, даже при раке, который обычно не является положительным относительно высоких лимфоидных, миелоидных, интерфероновых/цитокиновых маркеров, TMB или дефектов репарации ДНК, можно повысить вероятность успешного лечения путем определения, какие подгруппы пациентов являются положительными по этим маркерам, либо отдельно, либо в комбинации. Примеры могут включать подгруппы рака эндометрия, колоректального рака, немелкоклеточного рака легкого, рака желудка и меланомы (фиг. 19).

Другим важным фактором, регулирующим истощение Т-клеток, является наличие ассоциированных с опухолью вирусов, таких как HPV, гепатит В/С, EBV. При наложении вирусной инфекции с указанными выше маркерами, основными типами опухолей являются вирусно-инфицированный рак головы и шеи, рак шейки матки, гепатоцеллюлярная карцинома и рак носоглотки.

Другим маркером отбора пациентов для средства монотерапии, воздействующего на PD-1, является микросателлитная нестабильность (MSI-H) или дефекты путей репарации ошибочного спаривания (dMMR). Как показано на фигуре 12B, при раке эндометрия наблюдаются высокие уровни экспрессии PD-1, TIM-3 и LAG-3, около 20% случаев которого, как сообщается, являются MSI-H. Ожидается, что эти опухоли также имеют высокую TMB, как показано на фиг. 19. Учитывая предрасположенность опухолей MSI-H, в том числе эндометрия, отвечать на средство монотерапии, воздействующее на PD-1 (метка пембролизумаба), и экспрессию TIM-3 и LAG-3, можно применять тройные комбинации для лечения опухолей MSI-H. Кроме того, учитывая широту экспрессии PD-1, TIM-3 и LAG-3, опухоли эндометрия, не являющиеся MSI-H, также можно лечить с помощью двойной или тройной блокады PD-1, TIM-3 и LAG-3.

В целом, в двух неклинических моделях ксенотрансплантата тройная блокада PD-1, TIM-3 и LAG-3 с помощью TSR-042, TSR-022 и TSR-033 была особенно эффективной, эффект этот был связан с увеличением CD45⁺ TIL у животных, обработанных тройной комбинацией. Эти исследования показывают, что двойная блокада PD-1 с помощью α -TIM-3 или α -LAG-3 приводила к повышению эффективности по сравнению со средством монотерапии в моделях опухолей у гуманизированных мышей. Кроме того, тройная комбинация всех трех ингибиторов контрольной точки связана с дополнительной противоопухолевой активностью: тройная блокада PD-1, TIM-3 и LAG-3 приводила к значительным фармакодинамическим изменениям по сравнению со средством монотерапии, воздействующим на PD-1, с увеличением показателей TIL, снижением показателей внутриопухолевых Treg и воздействием на популяции TAM с помощью микроокружения опухоли. Таким образом, учитывая потенциальную роль PD-1, TIM-3 и LAG-3 в нарушении функции Т-клеток, эти наблюдения показывают, что одновременная блокада всех 3 контрольных точек может потенциально вызывать более сильные и более длительные противоопухолевые иммунные ответы, чем одиночные или двойные комбинации, и может представлять собой особенно эффективную терапевтическую стратегию.

Эквиваленты

Как используется в данном документе, формы единственного числа в описании и в формуле изобретения, если четко не указано обратное, следует понимать как включающие ссылки на множественное число. Формула изобретения или описание, в которых содержится "или" между одним или несколькими представителями группы, считаются удовлетворенными, если один, более одного или все представители группы присутствуют в указанном продукте или способе, используются в нем или иным образом имеют отношение к нему, если не указано противоположное или иное не очевидно из контекста. Настоящее изобретение включает варианты осуществления, в которых ровно один представитель группы присутствует в указанных продукте или способе, используется в них или иным образом имеет отношение к ним. Настоящее изобретение также включает варианты осуществления, в которых более одного или все представители группы присутствуют в указанных продукте или способе, используются в них или иным образом имеют отношение к ним. Кроме того, следует понимать, что настоящее изобретение охватывает все вариации, комбинации и сочетания, в которых одно или более ограничений, элементов, условий, описательных терминов и т.д. из одного или более перечисленных пунктов формулы изобретения вводятся в другой пункт формулы изобретения, зависимый от того же независимого пункта формулы изобретения (или любого другого пункта формулы изобретения, в зависимости от того, что применимо), если не указано иное или если среднему специалисту в данной области техники не будет очевидно, что будет возникать противоречие или несоответствие. Если элементы представлены в виде перечней (например, в виде группы Маркуша или в сходном формате), следует понимать, что также раскрывается каждая подгруппа элементов, и любой(любые) элемент(элементы) можно удалить из группы. В целом, следует понимать, что если настоящее изобретение или аспекты настоящего изобретения обозначается/обозначаются как содержащее/содержащие конкретные элементы, признаки и т.д., то определенные варианты осуществления настоящего изобретения или аспекты настоящего изобретения состоят или по сути состоят из таких элементов, признаков и т.д. Для целей упрощения, такие варианты осуществления были не в каждом случае так подробно конкретно изложены в данном документе. Также следует понимать, что любой вариант осуществления или аспект настоящего изобретения может быть в явной форме исключен из формулы изобретения независимо от того, изложено ли конкретное исключение в описании. Публикации, веб-сайты и другие ссылочные материалы, приводимые в данном документе в качестве ссылки для описания уровня техники настоящего изобретения и для предоставления дополнительной информации касательно его практической реализации, включены в данный документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полипептид, который способен связывать ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), содержащий последовательность тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 21; и последовательность легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 22.
2. Фармацевтическая композиция, содержащая полипептид по п.1 и фармацевтически приемлемый носитель.
3. Способ лечения рака, включающий введение фармацевтически эффективного количества композиции по п.2 нуждающемуся в этом человеку.
4. Способ по п.3, где рак представляет собой:
 - i) рак, ассоциированный с высокой мутационной нагрузкой опухоли (TMB),
 - ii) рак, который является микросателлитно-стабильным (MSS),
 - iii) рак, который характеризуется микросателлитной нестабильностью,
 - iv) рак, который имеет статус высокой микросателлитной нестабильности (MSI-H),
 - v) рак, который имеет статус низкой микросателлитной нестабильности (MSI-L),
 - vi) рак, ассоциированный с высокой TMB и MSI-H,
 - vii) рак, ассоциированный с высокой TMB и MSI-L или MSS,
 - viii) рак, который характеризуется дефектной системой репарации ошибочного спаривания ДНК,
 - ix) рак, который характеризуется дефектом в гене репарации ошибочного спаривания ДНК,
 - x) гипермутированный рак,
 - xi) рак, имеющий мутацию в полимеразе-дельта (POLD),
 - xii) рак, имеющий мутацию в полимеразе-эпсилон (POLE),
 - xiii) рак, который характеризуется дефицитом репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации ("HRD") или характеризуется мутацией или делецией гена репарации посредством гомологичной рекомбинации (HRR),
 - xiv) аденокарциному, рак эндометрия, рак молочной железы, рак яичника, рак шейки матки, рак фаллопиевой трубы, рак яичка, первичный рак брюшины, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак тонкого кишечника, плоскоклеточную карциному ануса, плоскоклеточную карциному полового члена, плоскоклеточную карциному шейки матки, плоскоклеточную карциному влагалища, плоскоклеточную карциному вульвы, саркому мягких тканей, меланому, почечноклеточную карциному, рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак желуд-

ка, рак мочевого пузыря, рак желчного пузыря, рак печени, рак щитовидной железы, рак гортани, рак слюнной железы, рак пищевода, рак головы и шеи, плоскоклеточную карциному головы и шеи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, мезотелиому, карциному из клеток Меркеля, саркому, глиобластому, гематологический рак, множественную миелому, В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина/первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, хронический миелогенный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, неходжкинскую лимфому, нейробластому, опухоль ЦНС, диффузную глиому ствола головного мозга (DIPG), саркому Юинга, эмбриональную рабдомиосаркому, остеосаркому или опухоль Вильмса, или

xv) рак из xiv), где рак является MSS или MSI-L, характеризуется микросателлитной нестабильностью, является MSI-H, имеет высокую TMB, имеет высокую TMB и является MSS или MSI-L, имеет высокую TMB и является MSI-H, имеет дефектную систему репарации ошибочного спаривания ДНК, имеет дефект в гене репарации ошибочного спаривания ДНК, представляет собой гипермутированный рак, представляет собой рак HRD или HRR, имеет мутацию в полимеразе-дельта (POLD) или имеет мутацию в полимеразе-эпсилон (POLE).

5. Способ по п.4, где способ дополнительно предусматривает применение другого терапевтического средства или средства лечения.

6. Способ по п.5, где способ дополнительно включает применение одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии, иммунотерапии, противоангиогенного средства или противовоспалительного средства.

7. Способ по п.4, где указанному человеку дополнительно вводят или будут вводить ингибитор иммунной контрольной точки.

8. Способ по п.7, где ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PD-1, TIM-3, CTLA-4, TIGIT, CEACAM, VISTA, BTLA, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM, KIR, A2aR, MHC класса I, MHC класса II, GALS, аденозина, TGF α , B7-H1, B7-H4 (VTCN1), OX-40, CD137, CD40, IDO или CSF1R.

9. Способ по п.4, где способ включает введение средства, связывающего LAG-3, в дозе, составляющей от приблизительно 1 до приблизительно 5000 мг, приблизительно 1 мг, приблизительно 2 мг, приблизительно 2.5 мг, приблизительно 3 мг, приблизительно 4 мг, приблизительно 5 мг, приблизительно 6 мг, приблизительно 7 мг, приблизительно 8 мг, приблизительно 9 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 800 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1100 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 1300 мг, приблизительно 1400 мг, приблизительно 1500 мг, приблизительно 2000 мг, приблизительно 3000 мг, приблизительно 4000 мг или приблизительно 5000 мг.

10. Способ по п.4, где способ включает введение средства, воздействующего на LAG-3, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель или один раз в восемь недель.

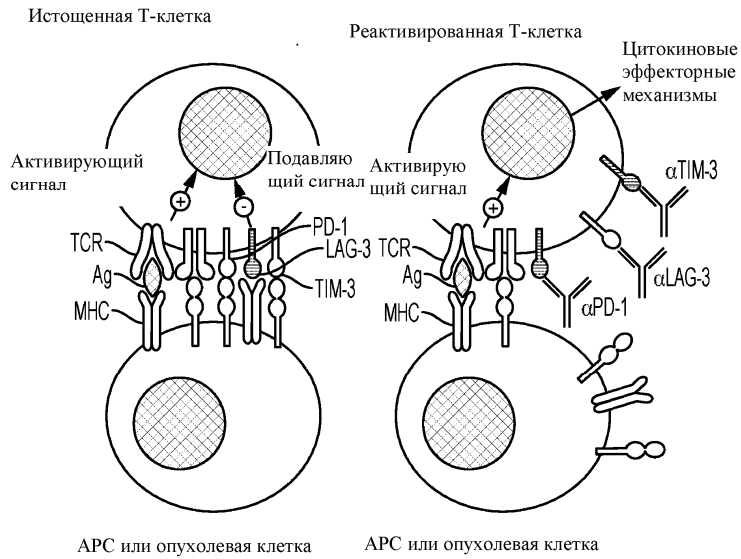
11. Способ по п.4, где способ включает введение средства, воздействующего на LAG-3, в дозе, составляющей приблизительно 20 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 720 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 1000 мг или приблизительно 1500 мг, один раз в две недели, или от приблизительно 240 до 720 мг или от приблизительно 240 до 1500 мг один раз в две недели.

12. Способ по п.4, где средство, воздействующее на LAG-3, вводят парентерально, внутривенно или подкожно.

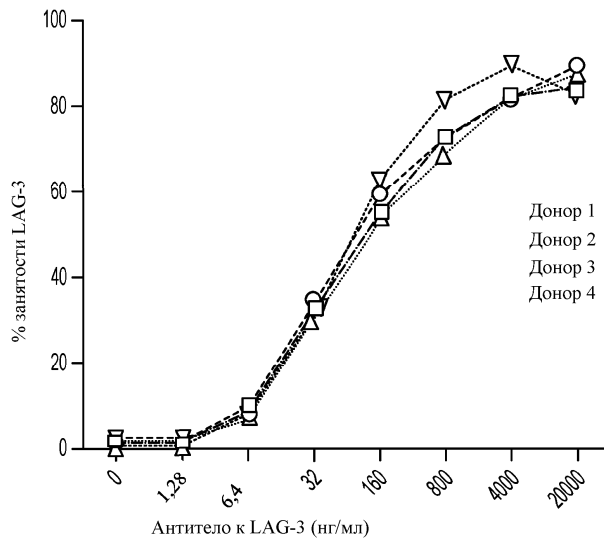
13. Способ лечения рака у человека, включающий внутривенное введение антитела против LAG-3, содержащего тяжелую цепь, соответствующую SEQ ID NO: 21, и легкую цепь, соответствующую SEQ ID NO: 22.

14. Способ по п.13, где рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

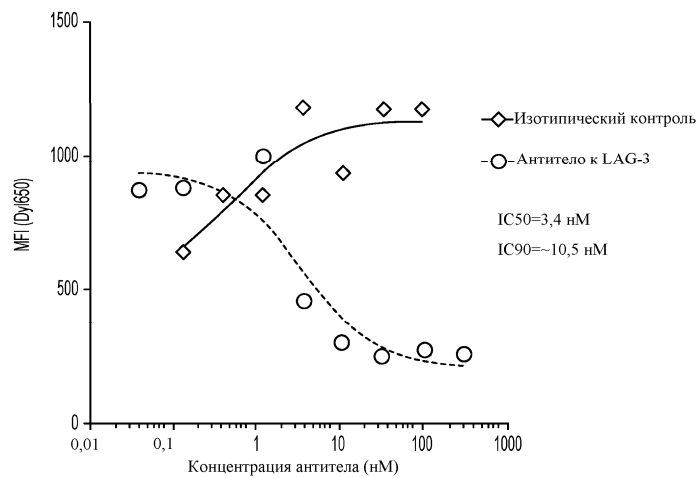
15. Способ по п.13, где способ дополнительно включает введение одного или более ингибиторов иммунной контрольной точки.



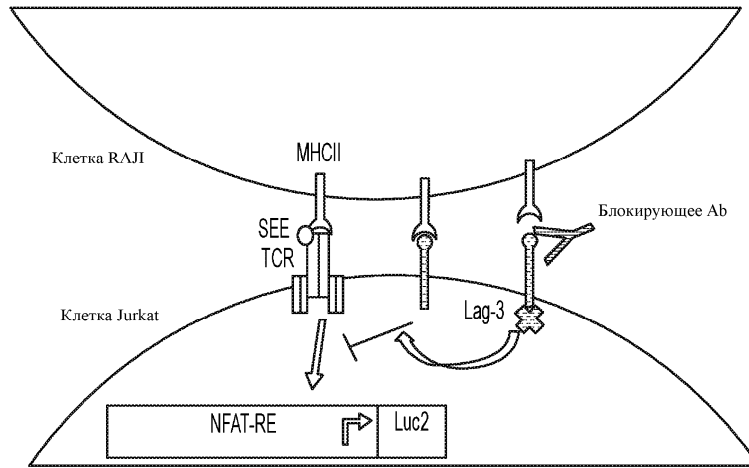
Фиг. 1



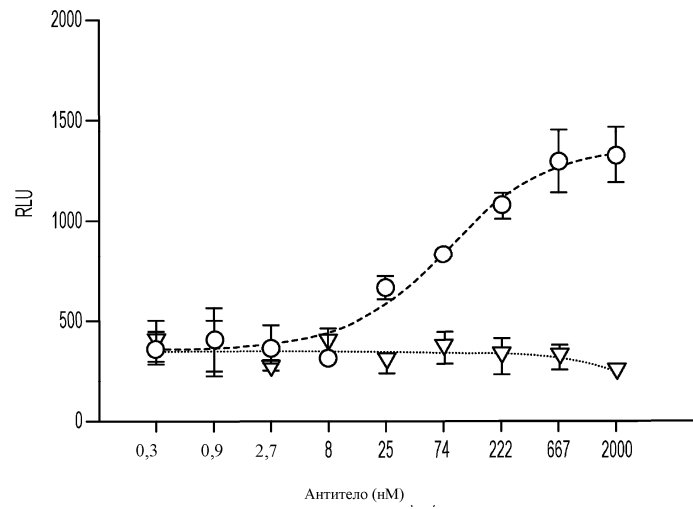
Фиг. 2



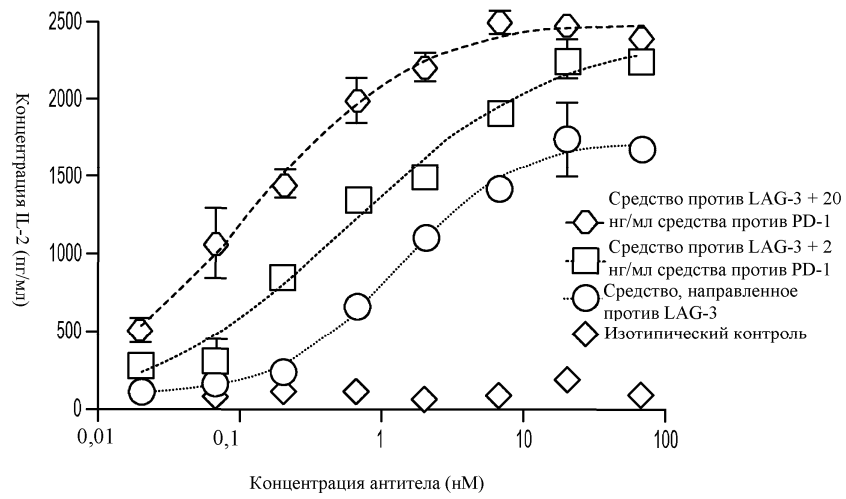
Фиг. 3А



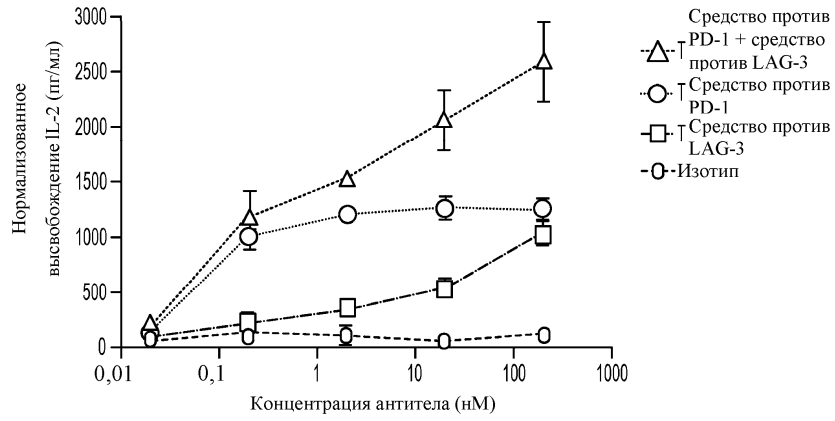
Фиг. 3B



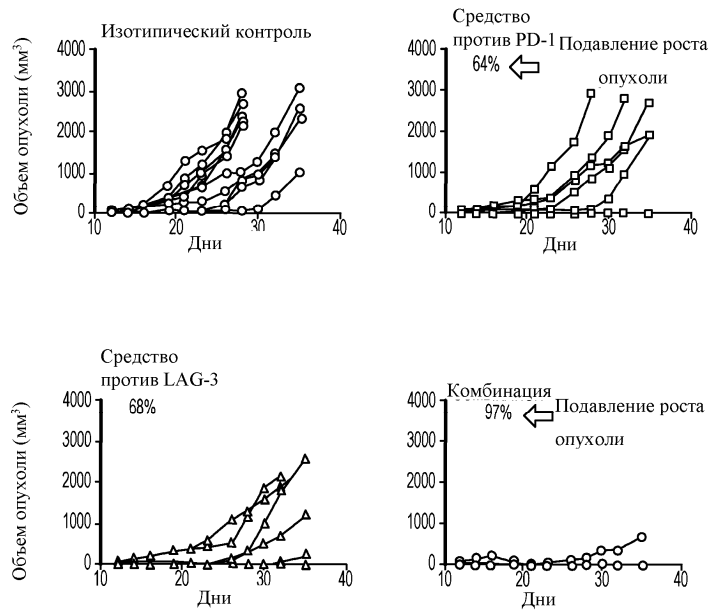
Фиг. 3C



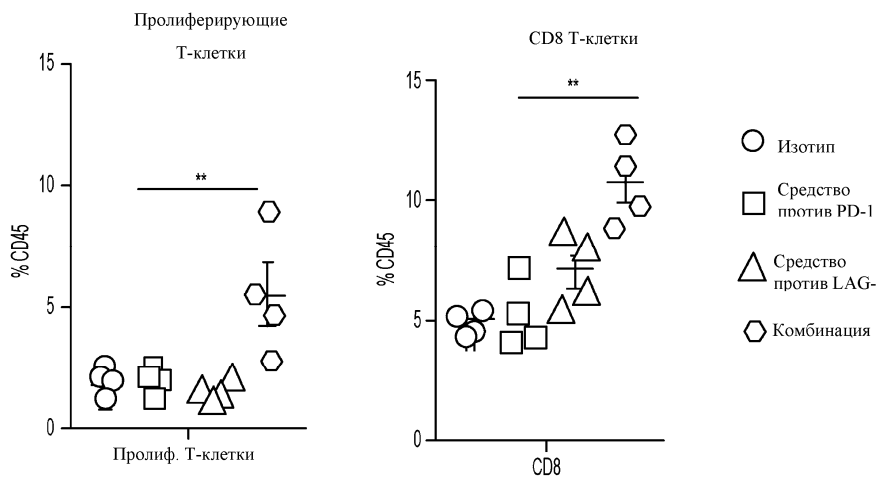
Фиг. 4



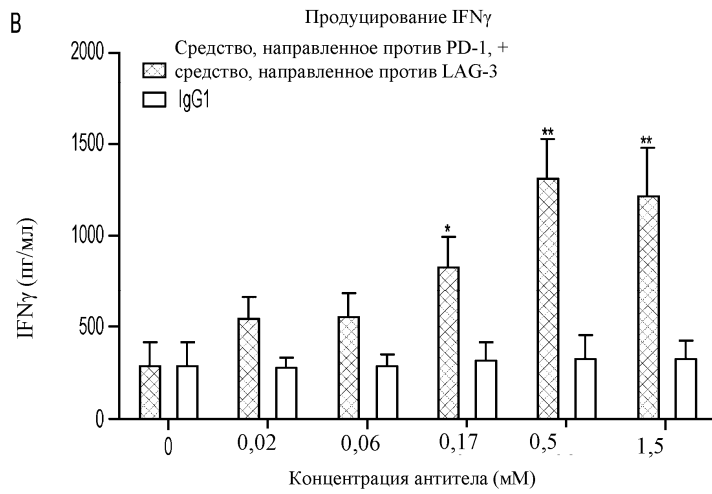
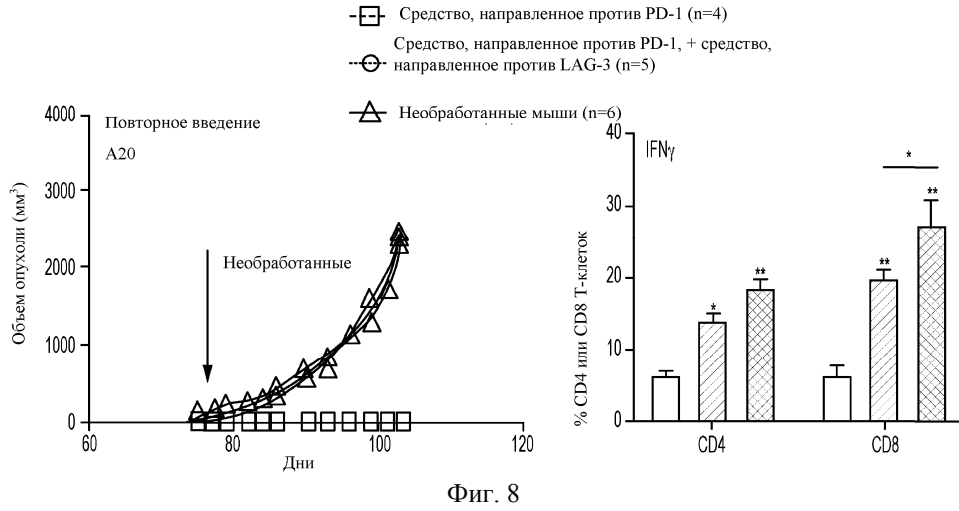
Фиг. 5



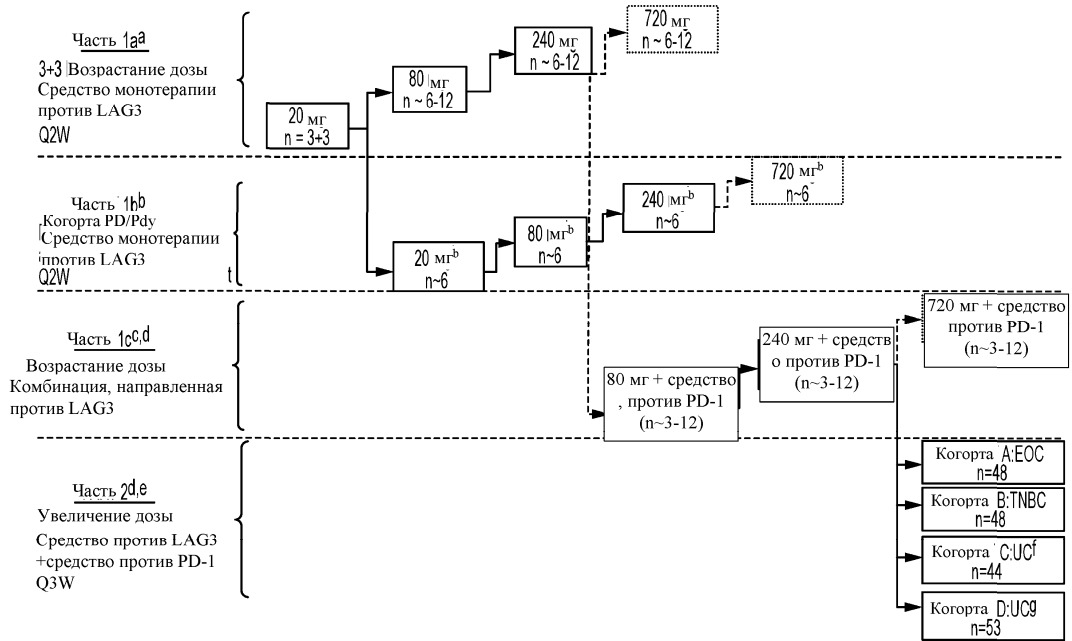
Фиг. 6



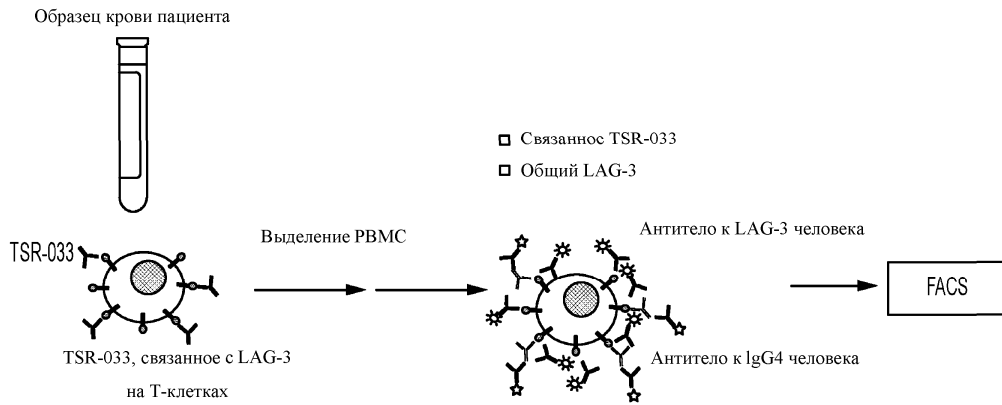
Фиг. 7



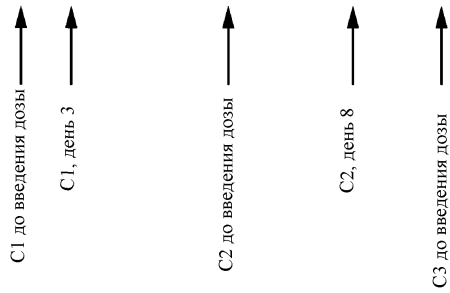
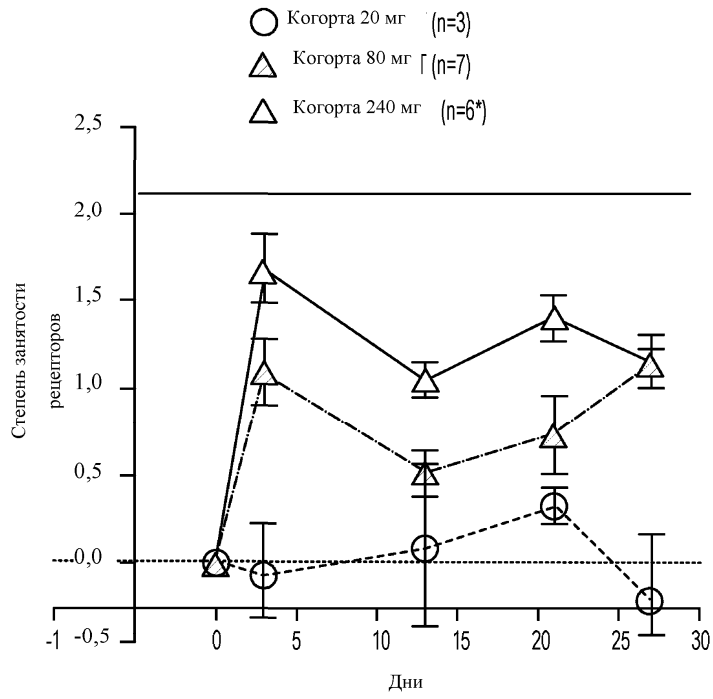
Фиг. 9



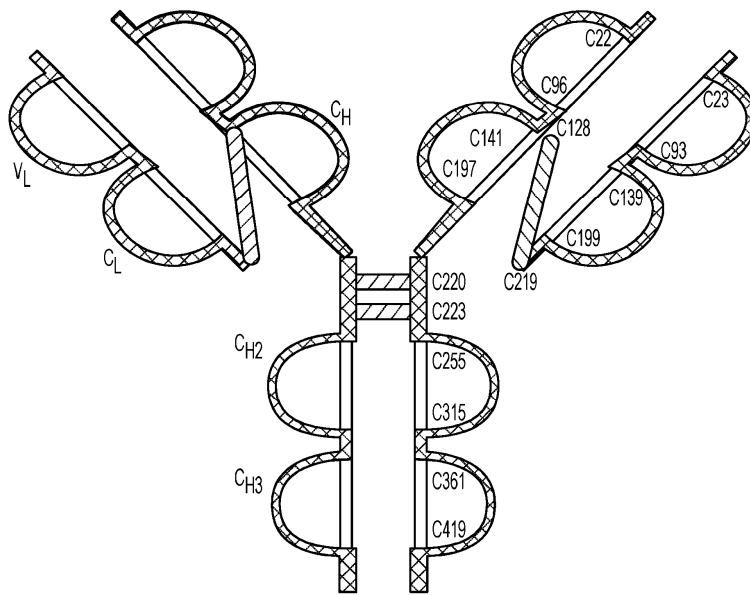
Фиг. 10А



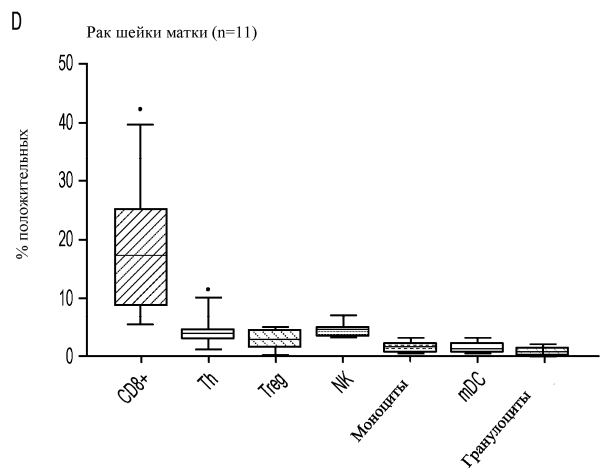
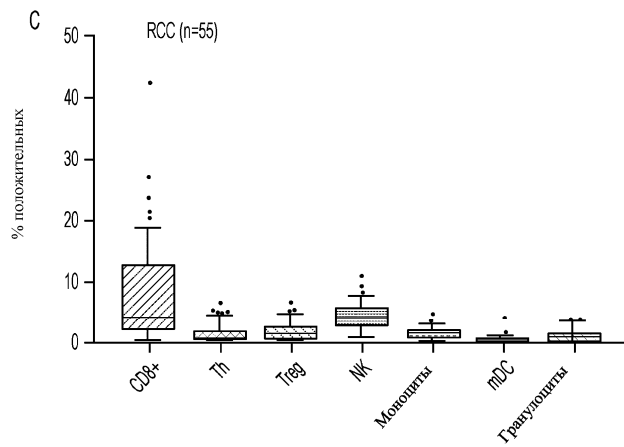
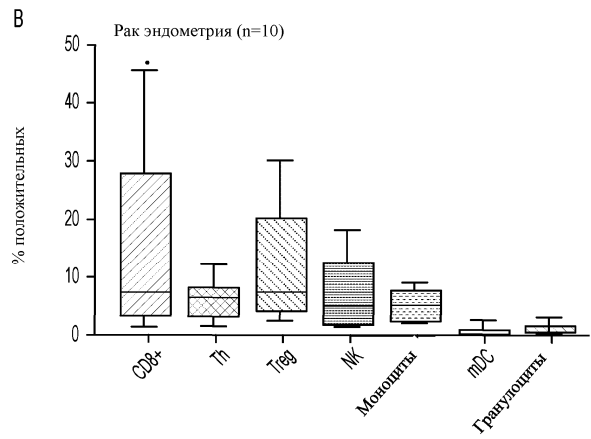
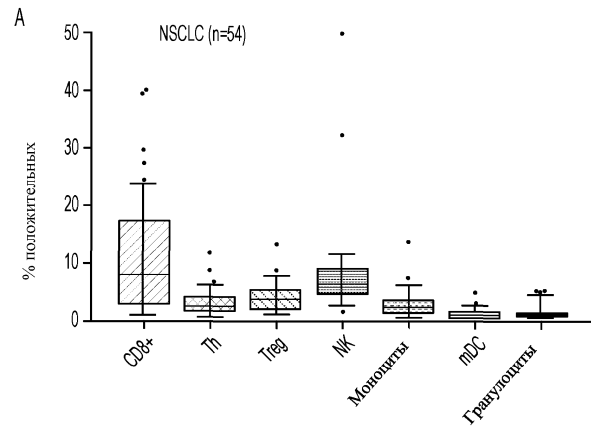
Фиг. 10В

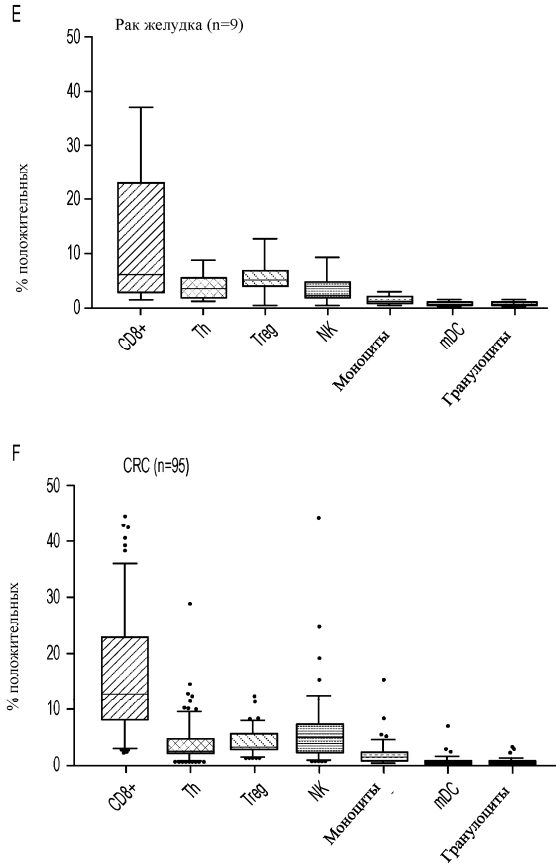


Фиг. 10С

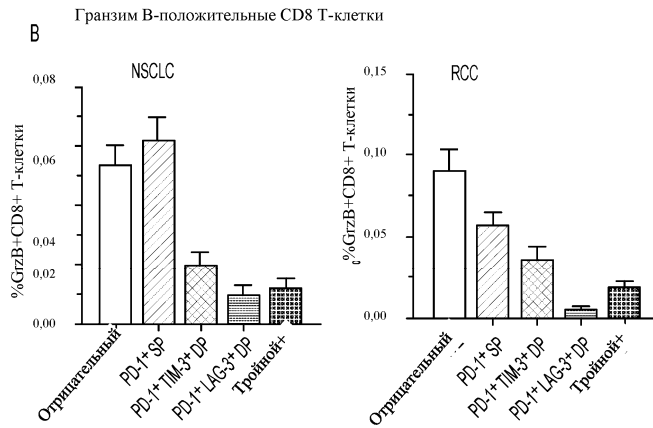
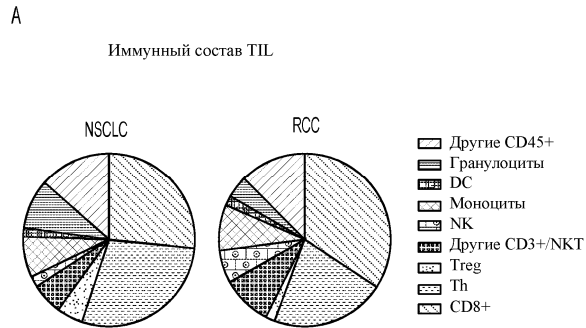


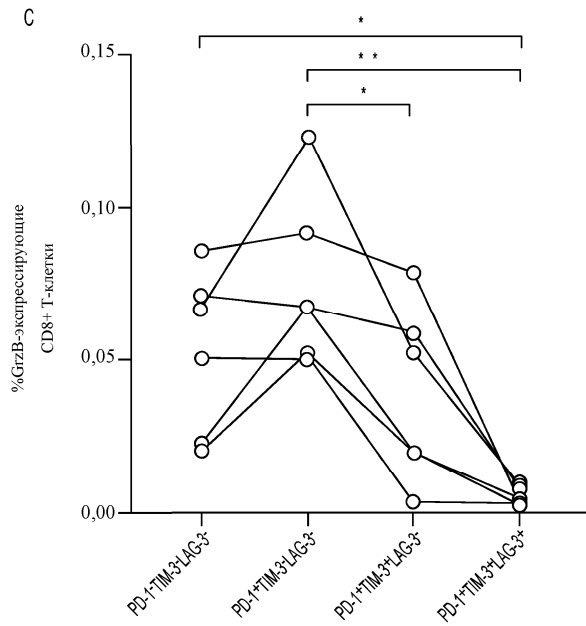
Фиг. 11



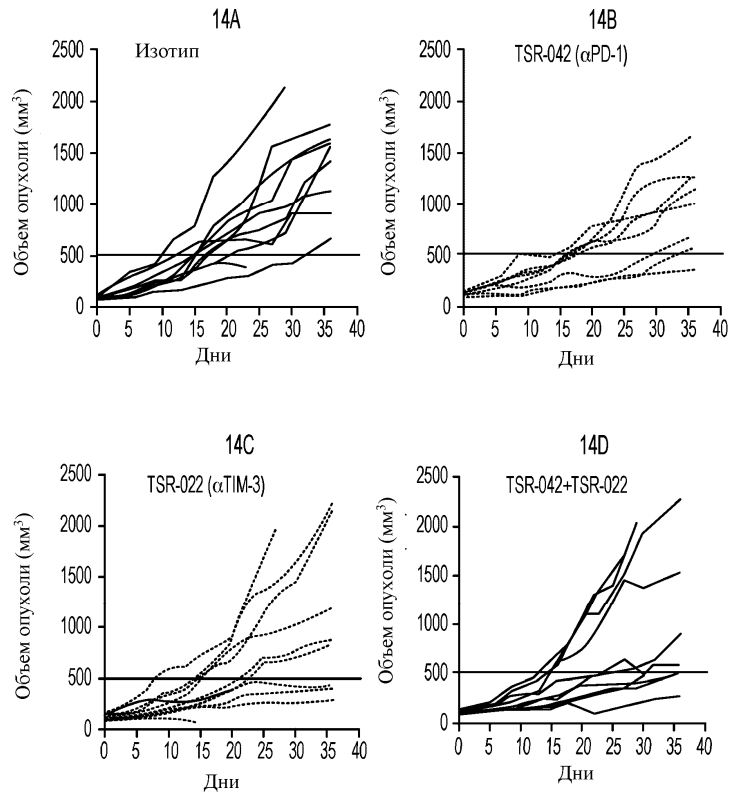


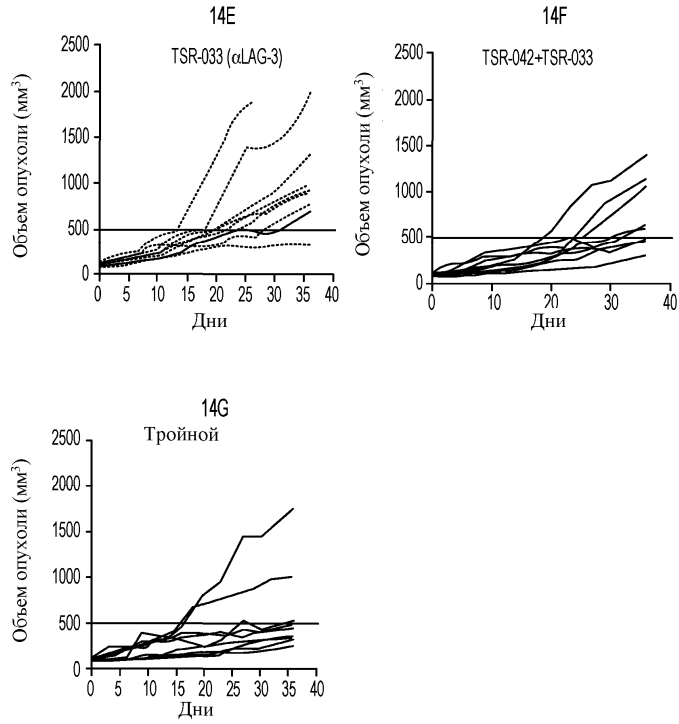
Фиг. 12





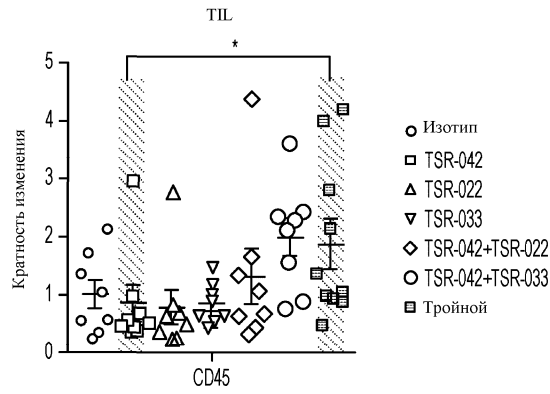
Фиг. 13



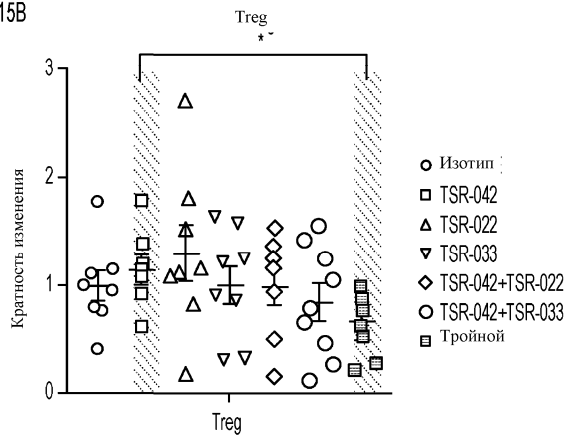


Фиг. 14

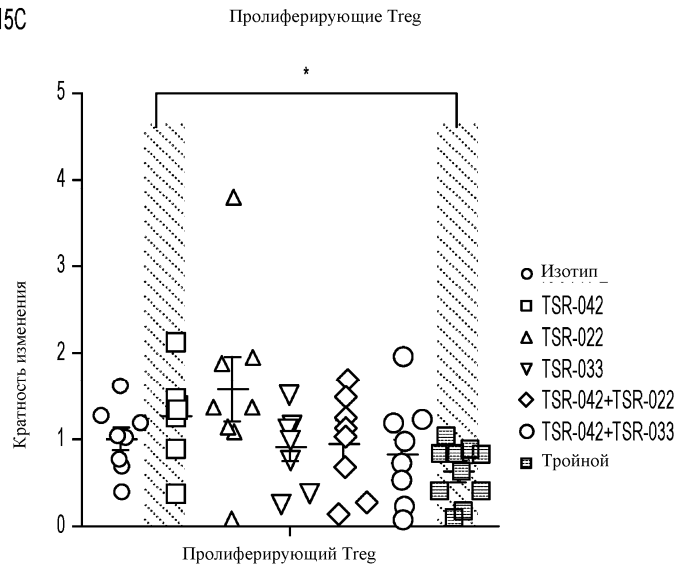
15A



15B

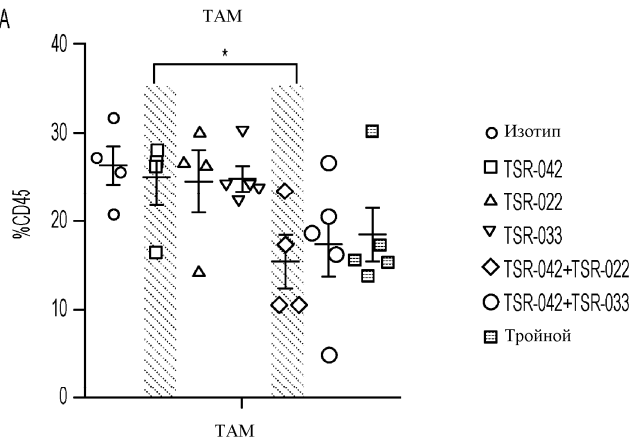


15C

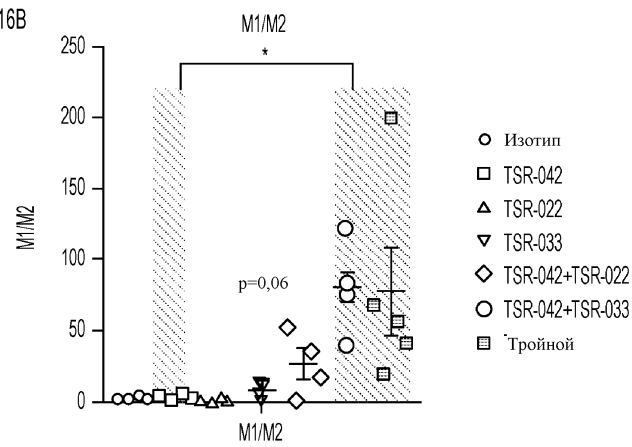


Фиг. 15

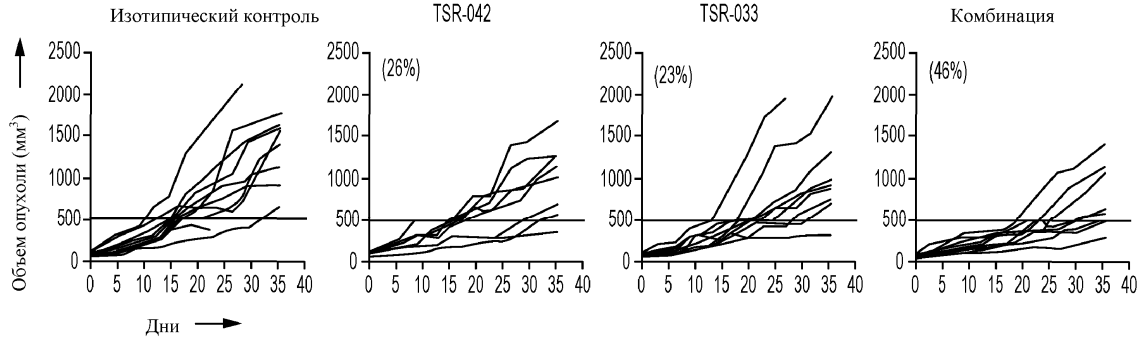
16A



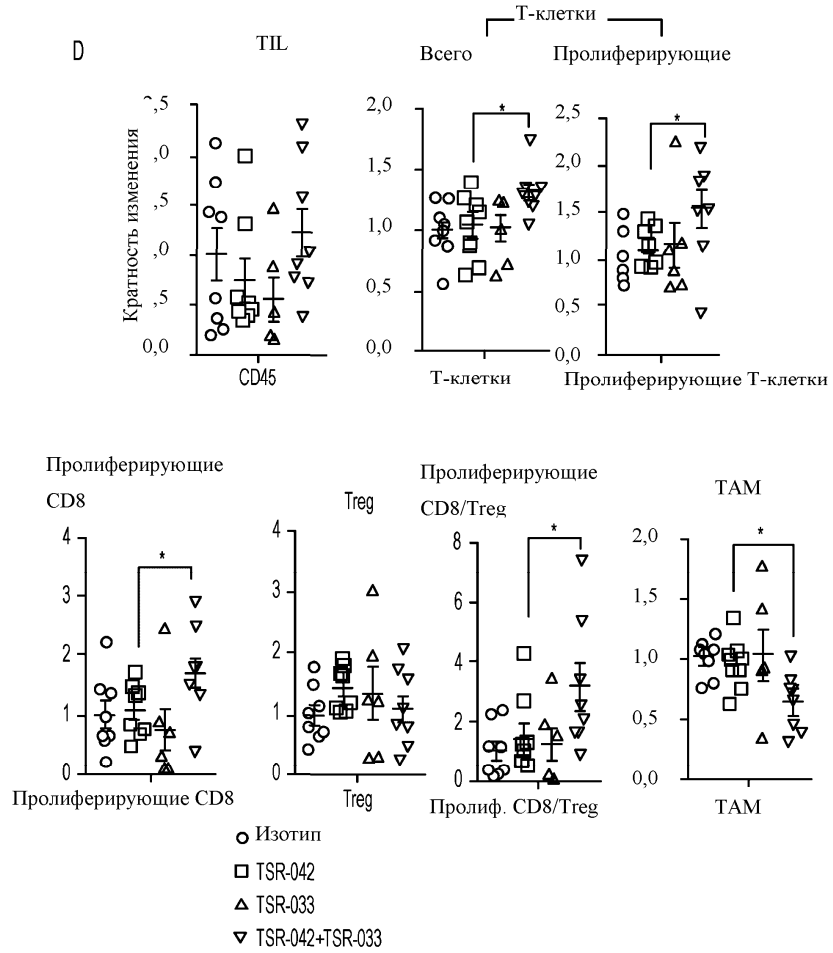
16B

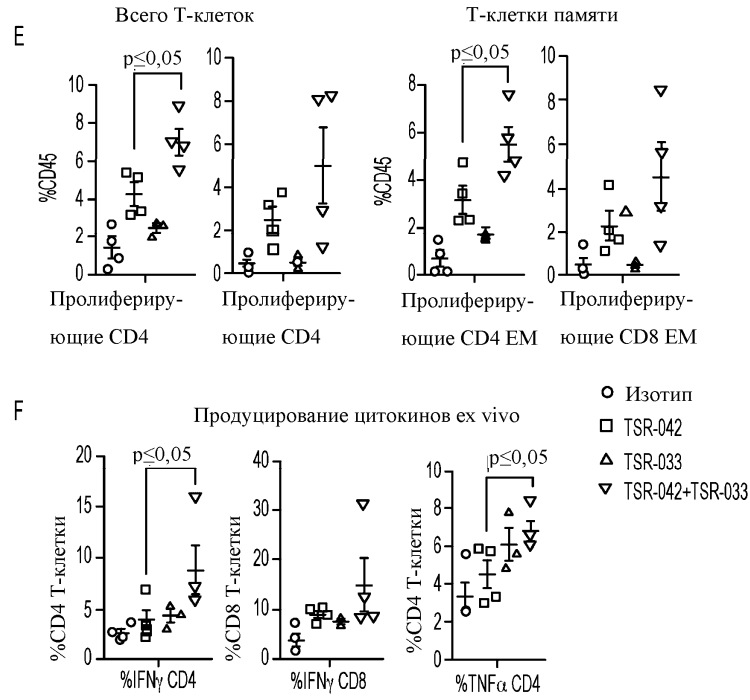


C

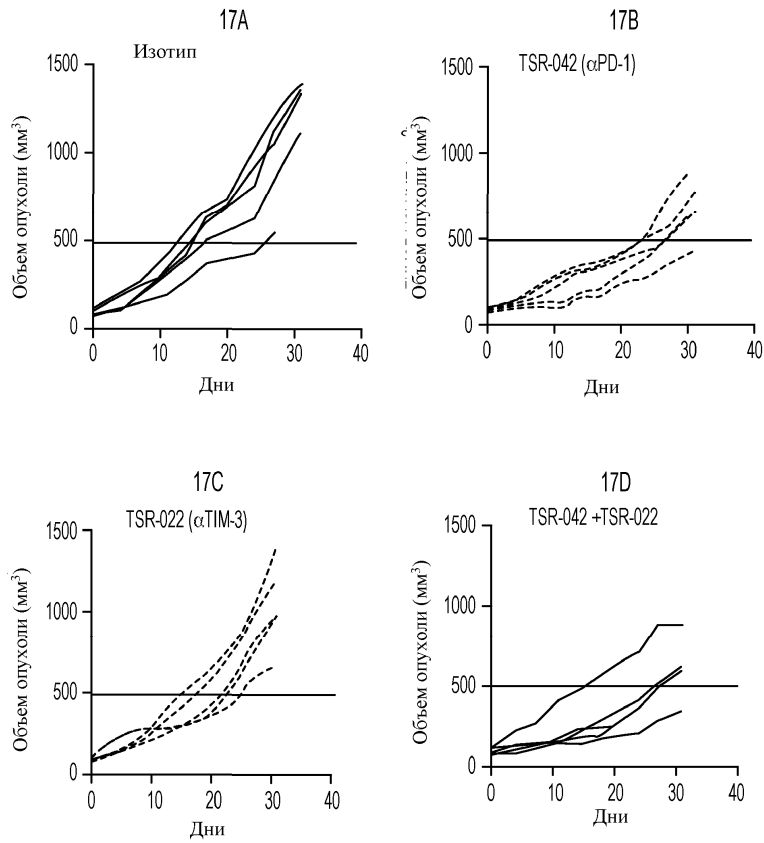


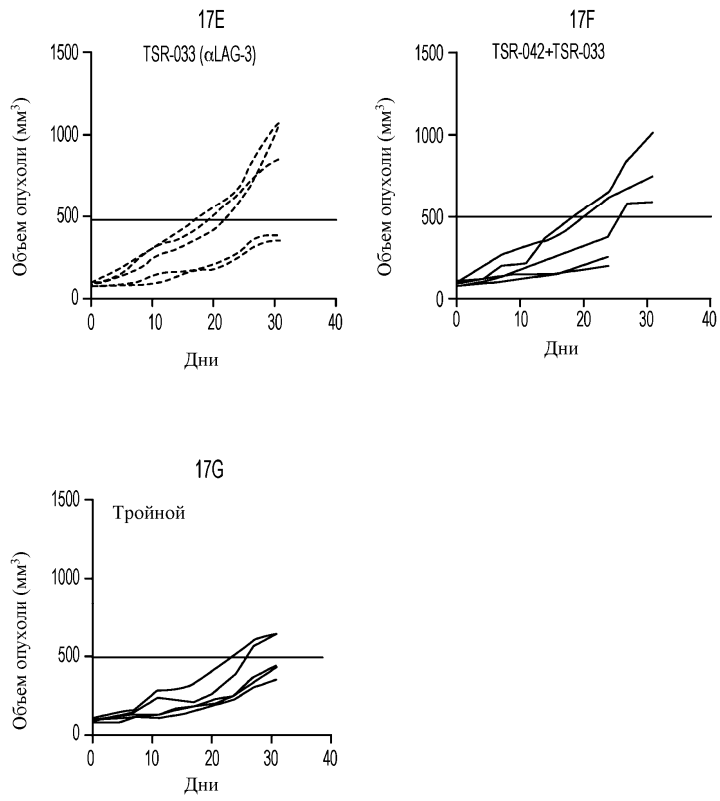
D



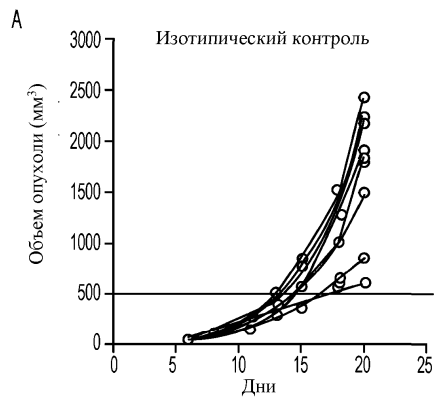


Фиг. 16

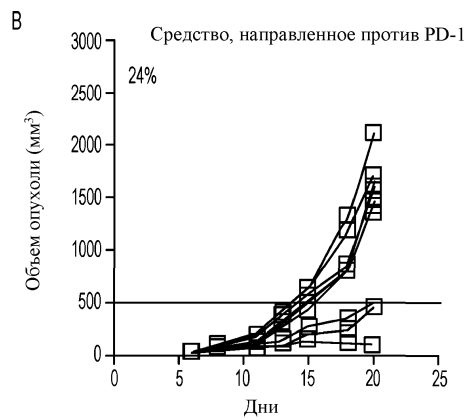




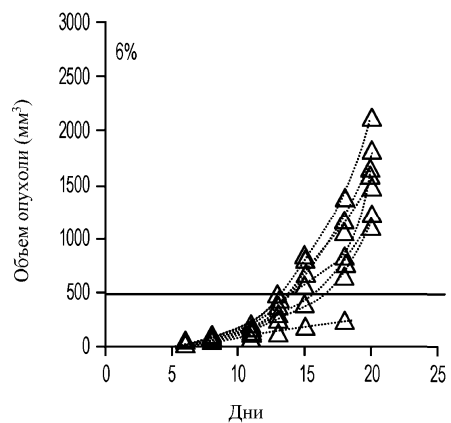
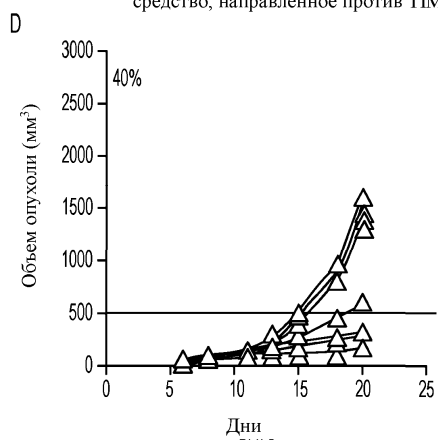
Фиг. 17

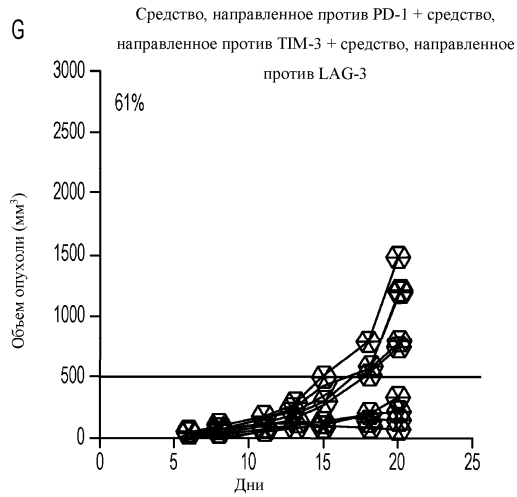
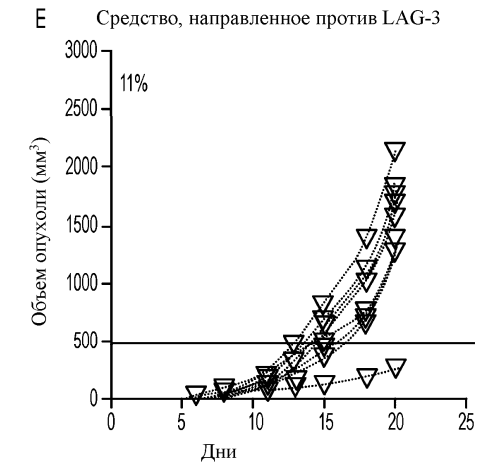


Фигура 18А



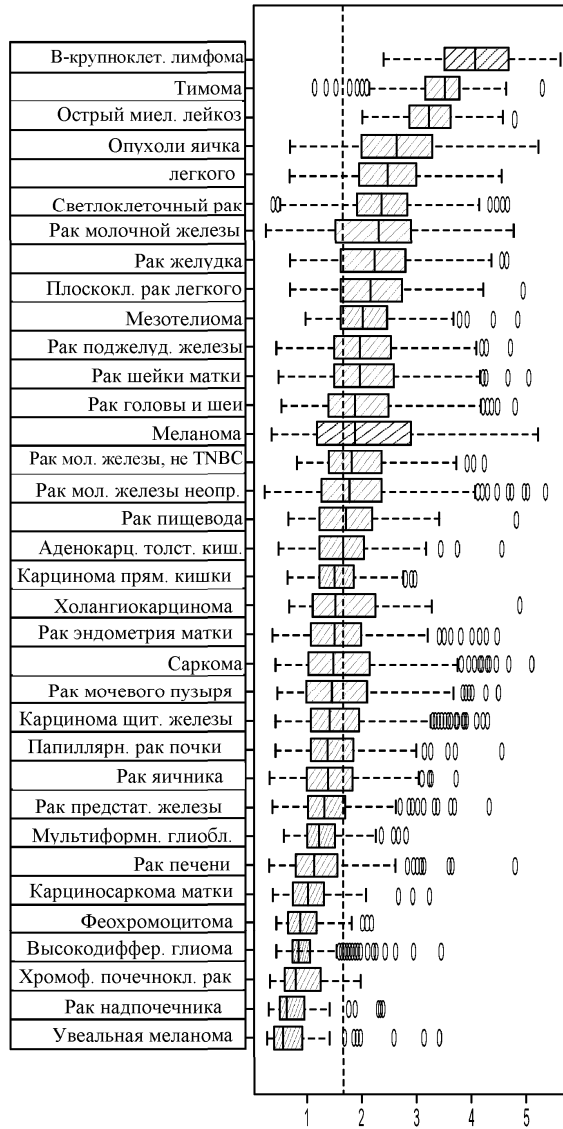
С Средство, направленное против TIM-3

Средство, направленное против PD-1 +
средство, направленное против TIM-3

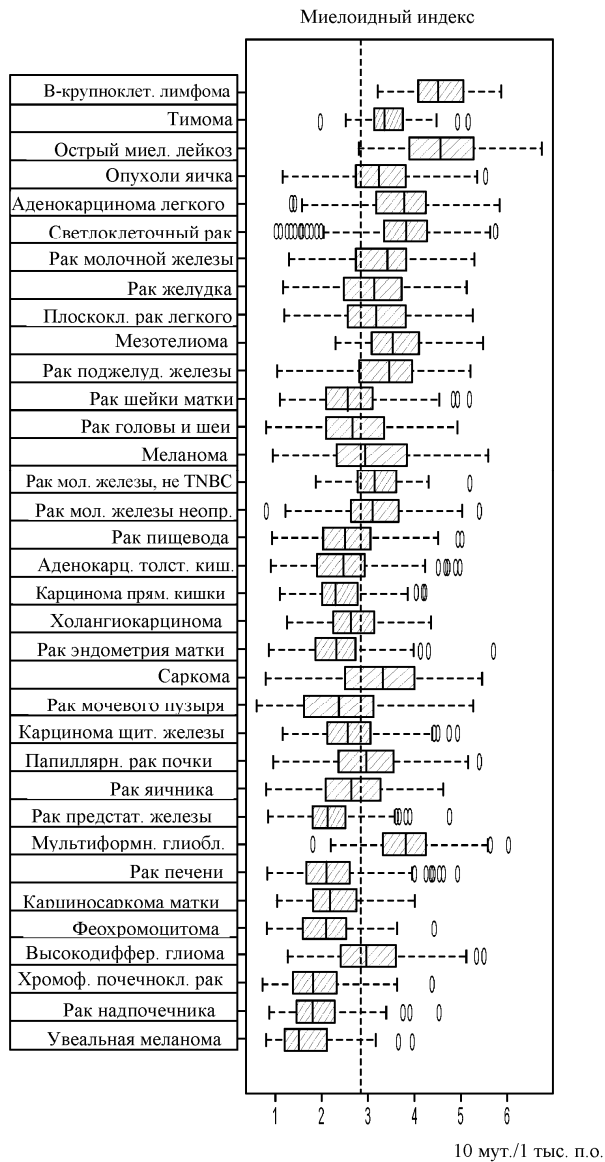


Фиг. 18

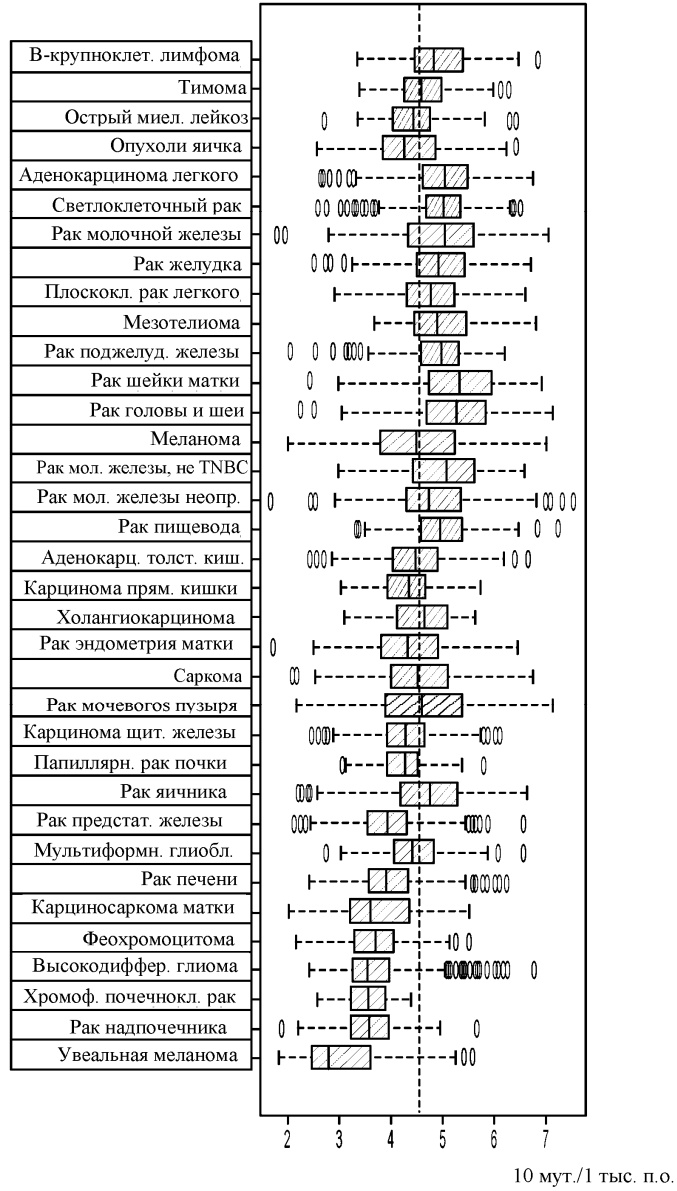
Лимфоидный индекс



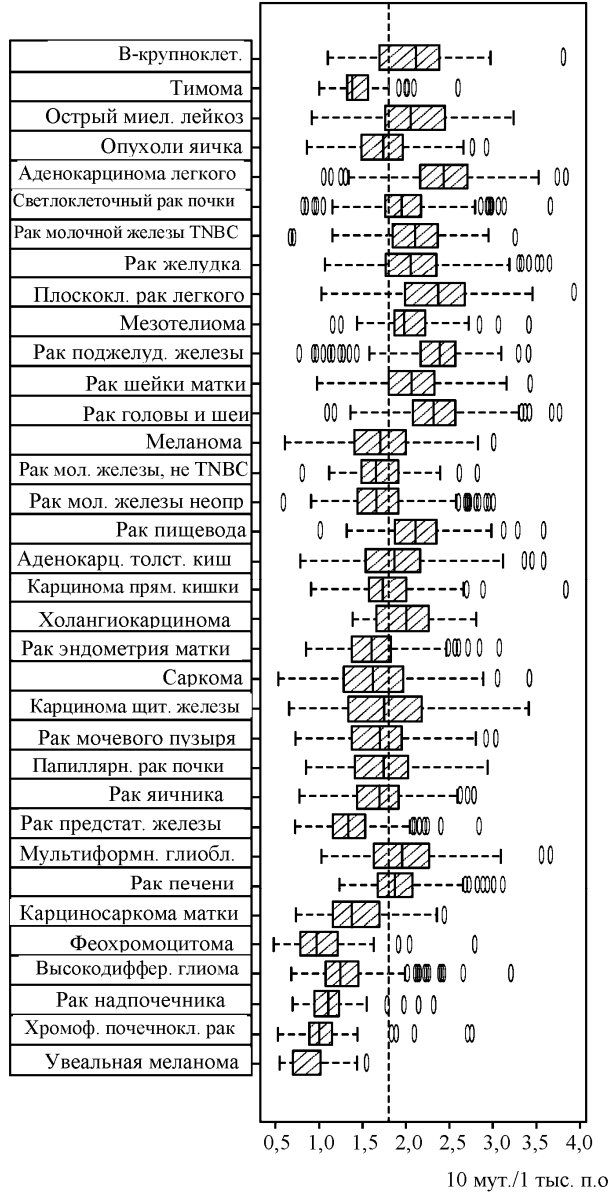
10 мут./1 тыс. п.о.



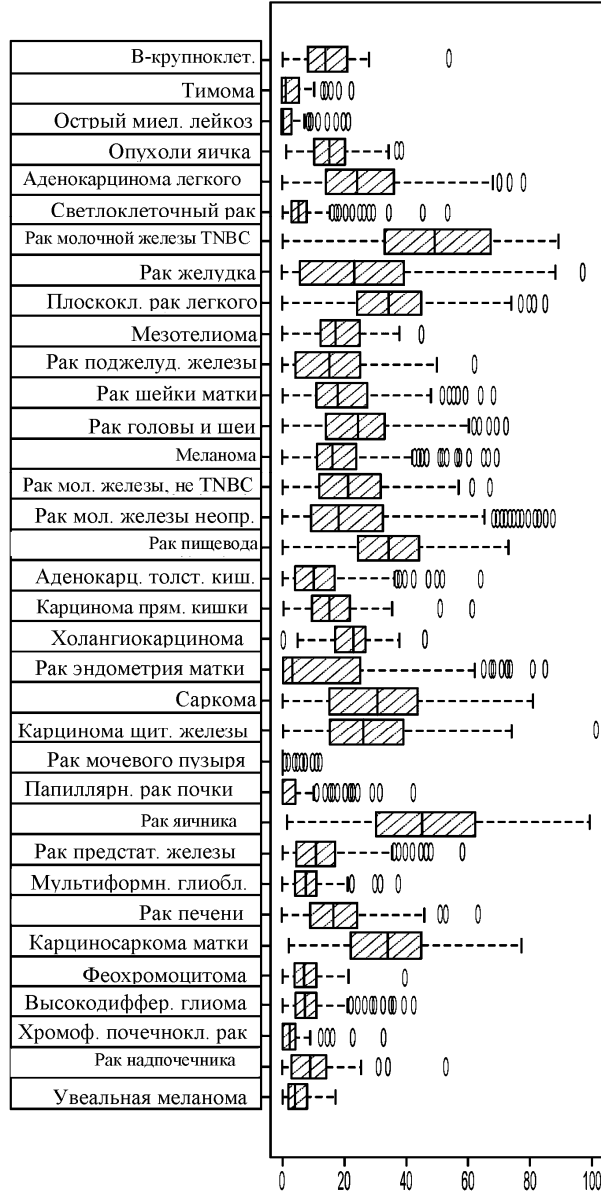
Интерфероновый индекс



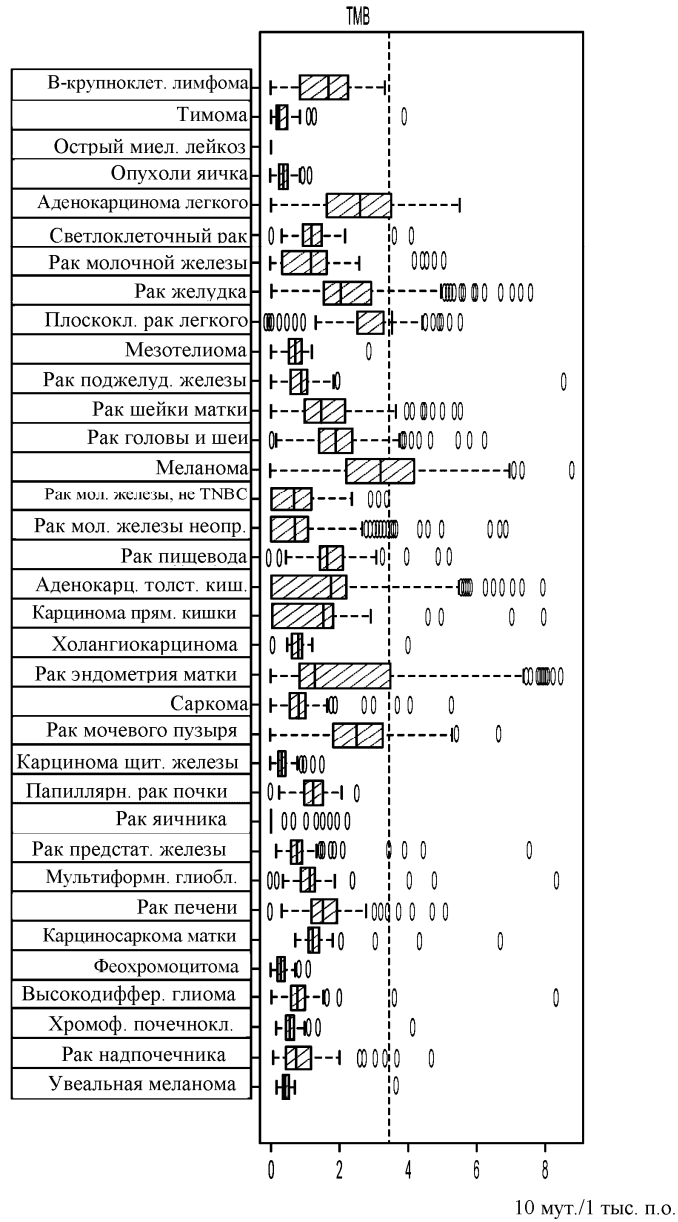
Цитокиновый индекс



Балл HRD



10 мут./1 тыс. п.о.



Фиг. 19

