

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391656** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.09.25

(22) Дата подачи заявки
2021.12.07

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) **КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ АНТИТЕЛОМ И ТАКСАНОМ**

(31) 63/122,042

(32) 2020.12.07

(33) US

(86) PCT/EP2021/084659

(87) WO 2022/122765 2022.06.16

(88) 2022.08.11

(71) Заявитель:
ГЕНМАБ А/С (DK); БИОНТЕХ СЕ
(DE)

(72) Изобретатель:

Шахин Угур, Муик Александер (DE),
Форссман Ульф (DK), Юре-Кункель
Мария, Гупта Маниш, Ахмади
Тахамган, Амири Кэти, Баджадж
Гаурав (US)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к комбинированной терапии для снижения или профилактики прогрессирования опухоли или лечения рака у субъекта. Комбинированная терапия включает введение связывающего агента, который связывается с человеческим CD137 и с человеческим PD-L1; и таксанового химиотерапевтического агента.

202391656
A1

202391656

A1

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ АНТИТЕЛОМ И ТАКСАНОМ

5 Область техники

Настоящее изобретение относится к комбинированной терапии с использованием связывающего агента, который связывается с человеческим CD137 и с человеческим PD-L1, в комбинации с таксановым химиотерапевтическим агентом для снижения или профилактики прогрессирующей опухоли или лечения рака.

10 Предшествующий уровень

CD137 (4-1BB, TNFRSF9) является членом семейства (TNFR) рецепторов фактора некроза опухоли (TNF). CD137 представляет костимулирующую молекулу на поверхности CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток, регуляторных Т-клеток (Treg), естественных киллеров (NK) и NKT-клеток, В-клеток и нейтрофилов. На Т-клетках CD137 не экспрессируется конститутивно, а индуцируется при активации Т-клеточного рецептора (TCR). Стимуляция с помощью природного лиганда 4-1BBL или антител-агонистов приводит к передаче сигналов с использованием TNFR-ассоциированного фактора (TRAF)-2 и TRAF-1 в качестве адаптеров. Ранняя передача сигналов с помощью CD137 включает реакции полиубиквитинирования K-63, которые в конечном итоге приводят к активации путей ядерного фактора (NF)-κB и митоген-активируемой протеин (MAP)-киназы. Передача сигналов приводит к усилению костимуляции Т-клеток, пролиферации, продукции цитокинов, созреванию и увеличению выживаемости CD8⁺ Т-клеток. Было показано, что агонистические антитела против CD137 способствуют противоопухолевому контролю Т-клеток в различных доклинических моделях (Murillo et al. 2008 Clin. Cancer Res. 14(21): 6895-6906). Антитела, стимулирующие CD137, могут индуцировать выживание и пролиферацию Т-клеток, тем самым усиливая противоопухолевый иммунный ответ. Антитела, стимулирующие CD137, были раскрыты в предшествующем уровне техники и включают урелумаб, человеческое антитело IgG4 (WO2005035584), и утомилумаб, человеческое антитело IgG2 (Fisher et al. 2012 Cancer Immunol. Immunother. 61: 1721-1733).

Лиганд программируемой смерти 1 (PD-L1, PDL1, CD274, B7H1) представляет однопроходный мембранный белок типа I с молекулярной массой 33 кДа. Описаны три изоформы PD-L1, основанные на альтернативном сплайсинге. PD-L1 принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов (Ig) и содержит один Ig-подобный домен C2-типа и один Ig-подобный домен V-типа. Свежевыделенные Т- и В-клетки экспрессируют незначительное количество PD-L1, и фракция (около 16%) моноцитов CD14+ конститутивно экспрессирует PD-L1. Однако известно, что интерферон- γ (IFN γ) активирует PD-L1 на опухолевых клетках.

PD-L1 препятствует противоопухолевому иммунитету за счет 1) толерантности опухолереактивных Т-клеток связыванием со своим рецептором, белком программируемой смерти клеток 1 (PD-1) (CD279) на активированных Т-клетках; 2) придания опухолевым клеткам устойчивости к лизису, опосредованному CD8+ Т-клетками и Fas-лигандом, путем передачи сигналов PD-1 через экспрессируемый опухолевыми клетками PD-L1; 3) толерантности Т-клеток путем обратной передачи сигналов через CD80, экспрессируемый Т-клетками (B7,1); и 4) стимулирования развития и поддержания индуцированных Т-регуляторных клеток. PD-L1 экспрессируется при многих видах рака человека, включая меланому, рак яичников, легких и толстой кишки (Latchman et al., 2004 Proc Natl Acad Sci USA 101, 10691-6).

Антитела, блокирующие PD-L1, показали клиническую активность в отношении нескольких видов рака, о которых известно, что они сверхэкспрессируют PD-L1 (включая меланому, NSCLC). Например, атезолизумаб представляет гуманизированное моноклональное антитело IgG1 против PD-L1. В настоящее время он проходит клинические испытания в качестве иммунотерапии по нескольким показаниям, включая различные типы солидных опухолей (смотрите, например, Rittmeyer et al., 2017 Lancet 389:255-265), и одобрен для лечения немелкоклеточного рака легкого и рака мочевого пузыря. Авелумаб, антитело к PD-L1 (Kaufman et al. Lancet Oncol. 2016;17(10):1374-1385), был одобрен FDA для лечения взрослых и детей в возрасте 12 лет и старше с метастатической клеточной карциномой Меркеля, и в настоящее время проходит клинические испытания при нескольких онкологических показаниях, включая рак мочевого пузыря, рак желудка, рак головы и шеи, мезотелиому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников и рак

почки. Дурвалумаб, антитело к PD-L1, одобрено для лечения местно-распространенной или метастатической уротелиальной карциномы и находится в стадии клинической разработки при множественных солидных опухолях и раке крови (смотрите, например, Massard et al., 2016 J Clin Oncol. 34(26):3119). -25).

5 Описаны дополнительные антитела против PD-L1, например, в WO2004004771.

Horton et al. (J Immunother Cancer. 2015; 3(Suppl 2): O10) описывает комбинацию агонистического антитела 4-1BB с нейтрализующим антителом PD-L1, в WO 2019/025545 описываются связывающие агенты, такие как биспецифические антитела, связывающие человеческий PD-L1 и связывающие
10 человеческий CD137.

Однако, несмотря на эти достижения в данной области, существует значительная потребность в улучшенных методах лечения, нацеленных на PD-L1 и CD137.

Краткое описание

15 Объект настоящего изобретения обеспечивает способ уменьшения или профилактики прогрессирования опухоли или лечения рака у субъекта, включая обеспечение субъекта комбинированным лечением:

I) связывающим агентом, содержащим первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1; и
20

II) таксановым химиотерапевтическим агентом.

Количество связывающего агента, вводимого в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, может составлять:

а) около 0,3-5 мг/кг массы тела или в целом около 25-400 мг; и/или

25 б) около $2,1 \times 10^{-9}$ – $3,4 \times 10^{-8}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times 10^{-7}$ – $2,7 \times 10^{-6}$ моль.

В другом аспекте объект настоящего изобретения относится к связывающему агенту, содержащему первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1, для применения при лечении рака или
30 для применения для снижения или профилактики прогрессирования опухоли, где связывающий агент используют в комбинации с таксановым химиотерапевтическим агентом.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к таксановому химиотерапевтическому агенту для применения при лечении рака или для применения для снижения или профилактики прогрессирования опухоли, где таксановый химиотерапевтический агент используют в комбинации со связывающим агентом, содержащим первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1.

Наконец, объект настоящего изобретения относится к композиции, включающей таксановый химиотерапевтический агент и связывающий агент, содержащий первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающуюся область, связывающуюся с человеческим PD-L1.

Краткое описание Фигур

Фигура 1: Схематическое изображение предполагаемого механизма действия биспецифических антител CD137хPD-L1. (A) PD-L1 экспрессируется на антигенпрезентирующих клетках (APC), а также на опухолевых клетках. Связывание PD-L1 с Т-клетками, экспрессирующими отрицательную регуляторную молекулу PD-1, эффективно подавляет сигналы активации Т-клеток и в конечном итоге приводит к ингибированию Т-клеток. (B) При добавлении биспецифического антитела CD137хPD-L1 ингибирующее взаимодействие PD-1:PD-L1 блокируется через специфическое плечо PD-L1, и в то же время биспецифическое антитело через взаимодействие клетка-клетка обеспечивает агонистическую передачу сигналов CD137, экспрессирующимся на Т-клетках, что приводит к сильной ко-стимуляции Т-клеток.

Фигура 2: Схема клинических испытаний.

Фигура 3: Повышение дозы; лучшее процентное изменение размера опухоли по сравнению с исходным уровнем у всех пациентов. Прекращение сбора данных: 29 сентября 2020 года. Пяти пациентам не проводили сканирование после исходного уровня. ^aМинимальная продолжительность ответа (5 недель) в соответствии с RECIST v1,1 не достигнута. ^bPR не был подтвержден при последующем сканировании. NE - не пригодный для клинической оценки; NSCLC - немелкоклеточный рак легкого; PD - прогрессирующее заболевание; PD-(L)1 - запрограммированная смерть (лиганд) 1; PR - частичный ответ; SD -

стабильное заболевание; SoD - сумма диаметров; uPR - неподтвержденный частичный ответ.

Фигура 4: Повышение дозы; Лучшее изменение размера опухоли по сравнению с исходным уровнем у пациентов с NSCLC. Прекращение сбора данных: 29 сентября 2020 года,

^aPR не был подтвержден при последующем сканировании.

^bPD-L1 экспрессию оценивали в архивных образцах опухолей .

BOR - наилучший общий ответ; CR -полный ответ; ICI - ингибитор иммунных контрольных точек; NA - нет данных; PD - прогрессирование заболевания; PD-(L)1 - запрограммированная смерть (лиганд) 1; PR -частичный ответ; RECIST - Критерии оценки ответа солидных опухолях; SD - стабильное заболевание; SoD- сумма диаметров; TPS-показатель пропорции опухоли; uPR - неподтвержденный частичный ответ.

Фигура 5: Расширенная когорта 1; А) Лучшее изменение размера опухоли по сравнению с исходным уровнем, В) Изменение SoD целевого поражения по сравнению с исходным уровнем. Прекращение сбора данных: 12 октября 2020,

*Обозначает пациентов с продолжающимся лечением.

^aPR не был подтвержден при последующем сканировании. ^bPD-L1 экспрессию оценивали в биопсиях опухоли, полученных до начала лечения GEN1046 (анализ 22C3 pharmDx, HistoGeneX, Belgium). Включает всех пациентов, у которых была хотя бы одна оценка опухоли после исходного уровня (каждые 6 недель), и, таким образом, они могли быть оценены на предмет клинической пользы; 6 из 12 пациентов продолжают лечение. Из оставшихся 12 пациентов, которые не показаны, у трех пациентов было клиническое прогрессирование до оценки первого ответа, а девять пациентов все еще получали лечение и не проходили оценку первого ответа.

BOR и ответ в определенный момент времени, оцененные с использованием RECIST 1,1; NA: Оценка после первого PD. BOR - наилучший общий ответ; ICI - ингибитор иммунных контрольных точек; NA - нет данных; NE - не пригодный для клинической оценки; NSCLC - немелкоклеточный рак легкого; PD - прогрессирование заболевания; PD-(L)1 - запрограммированная смерть (лиганд) 1; PR -частичный ответ; RECIST -Критерии оценки ответа солидных опухолей; SD -стабильное заболевание; SoD - сумма диаметров; TPS -показатель пропорции опухоли; uPR - неподтвержденный частичный ответ.

Фигура 6: Модель, предсказывающая максимальное образование тримера и занятость рецептора PD-L1 при дозе 100 мг, вводимой один каждую третью неделю (1Q3W).

Фигура 7: Сингенная модель опухоли MC38, созданная путем подкожной инокуляции 1×10^6 клеток MC38 мышам C57BL/6. Когда средний объем опухолей достигал 64 мм^3 , мышей рандомизировали и лечили **mbs** IgG2a-PD-L1 \times 4-1BB (0,5 мг/кг; 2 раза в неделю \times 3), доцетакселом (10 мг/кг; 1 раз в неделю \times 3), как таковым или в комбинации, или PBS. **А.** Показанные данные представляют собой средний объем опухоли на группу лечения (n=10) с переносом данных для животных, которые достигли критериев прекращения лечения. Построение кривых роста прекращали, когда в живых оставалось <50% животных в группе лечения. Стрелками указаны дни лечения. **В.** Выживаемость без прогрессирования, определяемая как процент мышей с объемом опухоли менее 500 мм^3 , показана в виде кривой Каплана-Мейера. Для сравнения выживаемости между группами лечения после прогрессирования у всех животных до объема опухоли выше 500 мм^3 (таблица 14) использовали анализ Мантеля-Кокса.

Выживаемость без прогрессирования, определяемая как процент мышей с объемом опухоли менее 500 мм^3 , показана в виде кривой Каплана-Мейера. Анализ Мантеля-Кокса использовали для сравнения выживаемости между группами лечения после прогрессирования у всех животных до объема опухоли выше 500 мм^3 (Таблица 14).

Подробное описание

Определения

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «связывающий агент» относится к любому агенту, способному связываться с желаемыми антигенами. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения связывающий агент представляет собой антитело, фрагмент антитела или его конструкцию. Связывающий агент может также содержать синтетические, модифицированные или не встречающиеся в природе фрагменты, в частности не пептидные фрагменты. Такие фрагменты могут, например, связывать желаемые антигенсвязывающие функционалы или области, такие как антитела или фрагменты антител. В одном варианте осуществления настоящего

изобретения связывающий агент представляет синтетическую конструкцию, содержащую антигенсвязывающие CDR или переменные области.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «иммуноглобулин» относится к классу структурно родственных гликопротеинов, состоящих из двух пар полипептидных цепей, одной пары легких (L) 5 низкомолекулярных цепей и одной пары тяжелых (H) цепей, все четыре из которых связаны между собой дисульфидными связями. Структура иммуноглобулинов была хорошо известна. Смотрите, например, *Fundamental Immunology Ch. 7* (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)).

10 Кратко, каждая тяжелая цепь обычно состоит из переменной области тяжелой цепи (сокращенно обозначаемой в настоящем документе, как V_H или VH) и константной области тяжелой цепи (сокращенно обозначаемой в настоящем документе, как C_H или CH). Константная область тяжелой цепи обычно состоит из трех доменов: $CH1$, $CH2$ и $CH3$. Шарнирная область 15 представляет область между доменами $CH1$ и $CH2$ тяжелой цепи и обладает высокой гибкостью. Дисульфидные связи в шарнирной области являются частью взаимодействий между двумя тяжелыми цепями в молекуле IgG. Каждая легкая цепь, как правило, состоит из переменной области легкой цепи (сокращенно обозначаемой в настоящем документе, как V_L или VL) и константной области 20 легкой цепи (сокращенно обозначаемой в настоящем документе, как C_L или CL). Константная область легкой цепи обычно состоит из одного домена, CL . Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности (или гипервариабельные области, которые могут быть гипервариабельными последовательностями и/или в виде структурно 25 определенных петель), также называемые областями, определяющими комплементарность (CDRs), чередующимися с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FRs). Каждый VH и VL обычно состоит из трех CDRs и четырех FRs, расположенных от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, 30 FR3, CDR3, FR4 (смотрите также Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196, 901-917 (1987)). Если иное не указано или не противоречит контексту, последовательности CDR в настоящем документе идентифицируются в соответствии с правилами IMGT с использованием DomainGapAlign (Lefranc MP., *Nucleic Acids Research* 1999;27:209-212 и Ehrenmann F., Kaas Q. и Lefranc

М.-Р. Nucleic Acids Res., 38, D301-307 (2010); смотрите, также интернет [http](http://www.imgt.org/) адрес www.imgt.org/). Если иное не указано или не противоречит контексту, то ссылки на положения аминокислот в константных областях в описании настоящей патентной заявки приведены в соответствии с нумерацией ЕС (Edelman et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1969 May;63(1):78-85; Kabat et al., Sequencies of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition. 1991 NIH Publication No. 91-3242).

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «аминокислота» и «аминокислотный остаток» могут использоваться взаимозаменяемо и не должны пониматься как ограничивающие. Аминокислоты представляют собой органические соединения, содержащие аминные (-NH₂) и карбоксильные (-COOH) функциональные группы, а также боковую цепь (R-группа), специфичную для каждой аминокислоты. В контексте настоящего изобретения аминокислоты могут быть классифицированы на основе структуры и химических характеристик. Таким образом, классы аминокислот могут быть отражены в одной или обеих из следующих таблиц:

Таблица 1: Основная классификация, базирующаяся на структуре и общей химической характеристике группы R

Класс	Аминокислота
Кислотные остатки	D и E
Основные остатки	K, R и H
Гидрофильные незаряженные остатки	S, T, N и Q
Алифатические незаряженные остатки	G, A, V, L и I
Неполярные незаряженные остатки	C, M и P
Ароматические остатки	F, Y и W

Таблица 2: Альтернативные физические и функциональные классификации аминокислотных остатков

Класс	Аминокислота
Остатки, содержащие гидроксильную группу	S и T
Алифатические остатки	I, L, V и M
Остатки, связанные с циклоалкенилом	F, H, W и Y
Гидрофобные остатки	A, C, F, G, H, I, L, M, R, T, V, W и Y
Отрицательно заряженные остатки	D и E
Полярные остатки	C, D, E, H, K, N, Q, R, S и T
Положительно заряженные остатки	H, K и R
Маленькие остатки	A, C, D, G, N, P, S, T и V
Очень маленькие остатки	A, G и S

Класс	Аминокислота
Участки, вовлеченные в образование изгиба	A, C, D, E, G, H, K, N, Q, R, S, P и T
Гибкие остатки	Q, T, K, S, G, P, D, E и R

Замена одной аминокислоты на другую может быть классифицирована, как консервативная или неконсервативная замена. В контексте изобретения «консервативная замена» представляет замену одной аминокислоты другой аминокислотой, имеющей сходные структурные и/или химические характеристики, такую замену одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком того же класса, как определено в любой из двух приведенных выше таблиц, например, лейцин может быть заменен изолейцином, поскольку они оба являются алифатическими разветвленными гидрофобами.

Аналогичным образом, аспарагиновая кислота может быть заменена глутаминовой кислотой, поскольку они обе имеют небольшие отрицательно заряженные остатки.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «аминокислота, соответствующая положению...», относится к номеру положения аминокислоты в тяжелой цепи IgG1 человека. Соответствующие положения аминокислот в других иммуноглобулинах могут быть найдены путем выравнивания с человеческим IgG1, таким образом, аминокислота или сегмент в одной последовательности, которая «соответствует» аминокислоте или сегменту в другой последовательности, является той, которая выравнивается с другой аминокислотой или сегментом с использованием стандартной программы выравнивания последовательностей, такой как ALIGN, ClustalW или аналогичный, как правило, с настройками по умолчанию и имеет по меньшей мере 50%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичность с тяжелой цепью IgG1 человека. В области техники, к которой относится настоящее изобретение, хорошо известно, как выравнивать последовательность или сегмент в последовательности и, таким образом, определить положение в последовательности, соответствующее положению аминокислоты по настоящему изобретению.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антитело» (Ab) относится к молекуле иммуноглобулина, фрагменту молекулы иммуноглобулина или производному любого из них, которое обладает

способностью специфически связываться с антигеном в обычных физиологических условиях с характерным периодом полураспада таким как, по меньшей мере, около 30 минут, по меньшей мере, около 45 минут, по меньшей мере, около одного часа, по меньшей мере, около двух часов, по меньшей мере, около четырех часов, по меньшей мере, около 8 часов, по меньшей мере, около 12 часов, около 24 часов или более, около 48 часов или более, около 3, 4, 5, 6, 7 или более дней и т. д., или любым другим релевантным функционально определенным периодом (таким, как период времени, достаточный, чтобы индуцировать, промотировать, усиливать и/или модулировать физиологические ответы, ассоциированные со связыванием антитела с антигеном, и/или времени, достаточного для того, чтобы антитело проявило эффекторную активность). Вариабельные участки тяжелой и легкой цепей молекулы иммуноглобулина содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антиген-связывающая область» относится к области, которая взаимодействует с антигеном и включает как область VH, так и область VL. Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антитело» включает не только моноспецифические антитела, но также мультиспецифические антитела, которые содержат множество, таких как два или более, например, три или более, различных антиген-связывающих областей. Константные области антител (Abs) могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (такие как эффекторные клетки) и компоненты системы комплемента, такие как C1q, первый компонент классического пути активации комплемента.

Как указано выше, используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антитело», если не указано иное или явно не противоречит контексту, включает фрагменты антитела, которые являются антигенсвязывающими фрагментами, *то есть*, сохраняют способность специфически связываться с антигеном. Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела. Примеры антигенсвязывающих фрагментов, входящих в объем используемого в описании настоящей патентной заявки термина «антитело», включают (I) Fab' или фрагмент Fab, одновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1, или моновалентное антитело, как описано в WO2007059782 (Genmab); (II)

фрагменты F(ab')₂, бивалентные фрагменты, содержащие два фрагмента Fab, соединенных дисульфидным мостиком в области шарнира; (III) фрагмент Fd, состоящий, по существу, из доменов VH и CH1; (IV) фрагмент Fv, состоящий, по существу, из доменов VL и VH одного плеча, (V) фрагмент dAb (Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)), который состоит по существу из VH домена и также называется доменным антителом (Holt et al; Trends Biotechnol. 2003 Nov; 21(11):484-90); (vi) молекулы верблюжьих или нанотел (Revets et al; Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan; 5(1):111-24) и (VII) изолированную область, определяющую комплементарность (CDR). Дополнительно, хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH кодируются отдельными генами, они могут быть соединены, используя рекомбинантные методы, синтетическим линкером, который позволяет получить их в виде единой белковой цепи, в которой участки VL и VH соединяются, образуя моновалентные молекулы (известные как одноцепочечные антитела или одноцепочечный Fv (scFv), смотрите, например, Bird et al., Science 242, 423-426 (1988) и Huston et al., PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)). Такие одноцепочечные антитела входят в объем используемого в описании настоящей патентной заявки термина «антитело», если не указано иное или ясно не следует из контекста. Хотя такие фрагменты, как правило, входят в объем понятия антитело, они в совокупности и каждый независимо друг от друга являются уникальными признаками настоящего изобретения, проявляющими различные биологические свойства и полезность. Эти и другие используемые фрагменты антител в контексте настоящего изобретения, наряду с биспецифическими форматами таких фрагментов описываются далее в настоящей патентной заявке. Также следует понимать, что используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антитело», если не указано иное, также включает поликлональные антитела, моноклональные антитела (MAb), антителоподобные полипептиды, такие как химерные антитела, и гуманизированные антитела, и фрагменты антител, сохраняющие способность специфически связываться с антигеном (антиген-связывающие фрагменты), полученные любыми известными технологиями, такими как ферментативное расщепление, синтез пептидов и рекомбинантные технологии. Полученное антитело может обладать любым изотипом. Используемый в описании настоящей патентной заявки «изотип» относится к классу иммуноглобулинов (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE или IgM), который кодируется

генами константной области тяжелой цепи. Когда в настоящем документе упоминается конкретный изотип, например IgG1, термин не ограничивается конкретной последовательностью изотипа, например конкретной последовательностью IgG1, но используется для обозначения того, что антитело ближе по последовательности к этому изотипу, например IgG1, чем к другим изотипам. Таким образом, например, антитело IgG1 по настоящему изобретению может представлять вариант последовательности встречающегося в природе антитела IgG1, содержащего вариации в константных областях.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «биспецифическое антитело» или «bs» относится к антителу, имеющему две разные антиген-связывающие области, определяемые разными последовательностями антител. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанные различные антиген-связывающие области связывают различные эпитопы одного и того же антигена. Однако в предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения указанные различные антиген-связывающие области связывают различные антиген-мишени. Биспецифическое антитело может быть любого формата, включая любой из форматов биспецифических антител, указанных в настоящем документе ниже.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «полноразмерный» в контексте антитела указывает на то, что антитело не является фрагментом, но содержит все домены конкретного изотипа, обычно встречающиеся для этого изотипа в природе, например, VH, CH1, CH2, CH3, шарнир, VL и CL-домены для антитела IgG1. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения полноразмерное антитело содержит две тяжелые и две легкие цепи. Каждая цепь содержит константные (C) и переменные (V) области, которые могут быть разделены на домены, обозначенные CH1, CH2, CH3 VH для тяжелой цепи и CL VL для легкой цепи. Предпочтительно домены тяжелых цепей расположены в порядке как у естественного антитела: VH-CH1-CH2-CH3; что означает, что домен VH примыкает к домену рядом CH1, за которым следует домен CH2 и, следовательно, за которым следует домен CH3. Предпочтительно домены легких цепей также присутствуют в порядке как у естественного антитела: VL-CL; это означает, что домен VL примыкает к домену CL.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «человеческое антитело» в данном контексте включает антитела, имеющие переменные и каркасные области, полученные из последовательностей зародышевой линии человеческого иммуноглобулина, и константный домен иммуноглобулина человека. Человеческие антитела по настоящему изобретению могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями зародышевой линии человеческого иммуноглобулина (например, мутации, вставки или делеции, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*). Однако используемый в описании настоящей патентной заявки термин «человеческое антитело» не включает антитела, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида, отличного от человека, например, мыши, были привиты каркасные последовательности человека.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «гуманизированное антитело» относится к генетически сконструированному нечеловеческому антителу, которое содержит константные домены человеческого антитела и нечеловеческие переменные домены, модифицированные таким образом, чтобы обеспечить высокий уровень гомологии последовательностей с человеческими переменными доменами. Этого можно достичь путем прививки шести комплементарно-определяющих областей (CDR) антител нечеловеческого происхождения, которые вместе образуют сайт связывания антигена, на гомологичную человеческую акцепторную каркасную область (FR) (смотрите, WO 92/22653 и EP0629240). Чтобы полностью восстановить аффинность связывания и специфичность исходного антитела, может потребоваться замена остатков каркаса исходного антитела (т.е. нечеловеческого антитела) каркасными областями человека (обратные мутации). Моделирование структурной гомологии может помочь идентифицировать аминокислотные остатки в каркасных областях, которые важны для связывающих свойств антитела. Таким образом, гуманизированное антитело может содержать нечеловеческие последовательности CDR, преимущественно человеческие каркасные области, необязательно содержащие одну или несколько обратных мутаций аминокислот в нечеловеческую аминокислотную последовательность, и полностью человеческие константные области. Необязательно для получения гуманизированного антитела с

предпочтительными характеристиками, такими как аффинность и биохимические свойства, могут быть применены дополнительные аминокислотные модификации, которые не обязательно являются обратными мутациями.

5 Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «Fc-область», если это не противоречит контексту, относится к области антитела, состоящей из двух последовательностей Fc тяжелых цепей иммуноглобулина, где указанные последовательности Fc содержат по меньшей мере шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.

10 Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «Fc-область» относится к области, содержащей в направлении от N-конца к C-концу антитела по меньшей мере шарнирную область, область CH2 и CH3 область. Fc-область антитела может опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (такие как эффекторные клетки) и компоненты системы комплемента.

15 Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «шарнирная область» относится к шарнирной области тяжелой цепи иммуноглобулина. Так, например, шарнирная область антитела IgG1 человека соответствует аминокислотам 216-230 в соответствии с нумерацией Eu, изложенной в Kabat (Kabat, E.A. et al., Sequences of proteins of immunological interest. 5th Edition - US Department of Health and Human Services, NIH publication No. 91-3242, pp 20 662,680,689 (1991). Однако шарнирная область также может относиться к любому другому подтипу, описанному в настоящем документе.

25 Используемый в описании патентной заявки термин «CH1 область» или «CH1 домен» относится к CH1 области тяжелой цепи иммуноглобулина. Так, например, CH1 область человеческого антитела IgG1 соответствует аминокислотам 118-215 в соответствии с нумерацией Eu, как указано в Kabat (там же). Однако область CH1 также может относиться к любому другому подтипу, описанному в настоящем документе.

30 Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «CH2 область» или «CH2 домен» относится к CH2 области тяжелой цепи иммуноглобулина. Так, например, CH2 область человеческого антитела IgG1 соответствует аминокислотам 231-340 в соответствии с нумерацией Eu, как

указано в Kabat (там же). Однако СН2 область также может относиться к любому другому подтипу, описанному в настоящем документе.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «СН3 область» или «СН3 домен» относится к СН3 области тяжелой цепи иммуноглобулина. Так, например, СН3 область человеческого антитела IgG1 соответствует аминокислотам 341-447 в соответствии с нумерацией Eu, как указано в Kabat (там же). Однако СН3 область также может относиться к любому другому подтипу, описанному в настоящем документе.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «полная длина» в контексте антитела указывает на то, что антитело не является фрагментом, а содержит все домены конкретного изотипа, обычно встречающиеся у этого изотипа в природе, например, домены VH, CH1, CH2, CH3, шарнир, VL и CL домены для антитела IgG1.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «связывание» или «способность к связыванию» в контексте связывания антитела с заранее определенным антигеном или эпитопом обычно представляет собой связывание с аффинностью, соответствующей K_D около 10^{-7} М или менее, например, около 10^{-8} М или менее, например, около 10^{-9} М или менее, около 10^{-10} М или менее, или около 10^{-11} М или даже менее, при определении с использованием биослойной интерферометрии (BLI) или, например, при определении с использованием технологии поверхностного плазмонного резонанса (SPR) и прибора VIAcore 3000 с использованием антигена в качестве лиганда и антитела в качестве аналита. Антитело связывается с заданным антигеном с аффинностью, соответствующей K_D , по меньшей мере в десять раз ниже, например, по меньшей мере в 100 раз ниже, например, по меньшей мере в 1000 раз ниже, например, по меньшей мере в 10000 раз ниже, например, по меньшей мере в 100 000 раз ниже, чем его K_D для связывания с неспецифическим антигеном (например, BSA, казеин), отличным от заданного антигена или близкородственного антигена. Значение аффинности, которое выше, зависит от K_D антитела, поэтому когда K_D антитела очень низкая (т. е. высокоспецифичное антитело) то степень с которой аффинность к антигену ниже, чем аффинность к неспецифическому антигену, может быть больше по меньшей мере в 10000 раз.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин « k_d » (s^{-1}) в данном контексте относится к константе скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Указанное значение также называют показателем k_{off} .

5 Используемый в описании настоящей патентной заявки термин « K_D » (M) в данном контексте относится к константе равновесия диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «PD-L1» относится к лиганду-1 программируемой смерти клеток. PD-L1 обнаруживается у людей и других видов, и, таким образом, используемый в описании настоящей патентной заявки термин «PD-L1» не ограничивается PD-L1 человека, если это не противоречит контексту. Последовательности PD-L1 человека можно найти в Genbank под номером доступа НП_054862.1. Последовательность PD-L1 человека также показана в SEQ ID NO: 25, где предполагается, что

10 аминокислоты 1-18 являются сигнальным пептидом. Последовательность зрелого полипептида представлена в SEQ ID NO: 26.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «PD-1» относится к человеческому белку программируемой смерти-1, также известному как CD279 (UniProtKB Q15116).

20 Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «путь программируемой смерти клеток-1 (PD-1)» или «путь PD-1» относится к молекулярному сигнальному пути, включающему рецептор клеточной поверхности PD-1 и его лиганды PD-L1 и PD-L2. Активация этого пути индуцирует иммунную толерантность, тогда как ингибирование приводит к подавлению Т-клеток, что должно привести к активации иммунитета.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «CD137» относится к человеческому белку кластера дифференцировки 137. CD137 (4-1BB) также обозначается, как TNFRSF9, является рецептором лиганда TNFSF9/4-1BBL. Считается, что CD137 участвует в активации Т-клеток. CD137 человека имеет инвентарный номер UniProt Q07011. Последовательность CD137 человека также показана в SEQ ID NO: 23, где предполагается, что

30 аминокислоты 1-23 являются сигнальным пептидом. Зрелая последовательность CD137 человека представлена в SEQ ID NO: 24.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «лечение» относится к введению эффективного количества терапевтически активного антитела, необязательно в сочетании с таксановым химиотерапевтическим препаратом, как предусмотрено настоящим изобретением, с целью облегчения, уменьшения интенсивности, купирования или устранения (лечение) симптомов или болезненных состояний.

Процент идентичности между двумя последовательностями является функцией количества идентичных позиций, общих для последовательностей (*m.e.* % гомологии = количество идентичных позиций/общее количество позиций $\times 100$), принимая во внимание количество пробелов и длину каждого пробела, который необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Процент идентичности между двумя последовательностями нуклеотидов или аминокислот, например, можно определить с помощью алгоритма E. Meyers and W. Miller, *Comput. Заявл. Biosci* 4, 11-17 (1988), который был включен в программу ALIGN (версия 2.0) с использованием таблицы весов замен остатков PAM120, штрафа за длину промежутка 12 и штрафа за промежуток 4. Дополнительно процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями может быть определен с использованием алгоритма Needleman and Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48, 444 453 (1970).

В контексте настоящего изобретения для описания мутации используются следующие обозначения, если не указано иное: I) замена аминокислоты в данном положении записывается, например, как K409R, что означает замену лизина в положении 409 белка на аргинин; и II) для конкретных вариантов используются конкретные трехбуквенные или однобуквенные коды, включая коды Хаа и X для обозначения любого аминокислотного остатка. Так, замена лизина на аргинин в положении 409 обозначается как: K409R, а замена лизина на любой аминокислотный остаток в положении 409 обозначается как K409X. В случае делеции лизина в положении 409, это обозначается, как K409*.

В контексте настоящего изобретения «ингибирование связывания PD-L1 с PD-1» относится к любому обнаруживаемому значительному снижению связывания PD-L1 с PD-1 в присутствии антитела, способного связывать PD-L1, как правило, ингибирование означает снижение, по меньшей мере, примерно на 10%, например, по меньшей мере, примерно на 15%, то есть, по меньшей мере

около 20%, например снижение связывания между PD-L1 и PD-1 по меньшей мере на 40%, вызванное присутствием антитела против PD-L1. Ингибирование связывания PD-L1 с PD-1 можно определить любым подходящим методом. В одном варианте ингибирование определяют, как описано в примере 6 WO 2019/025545.

Резистентность, отсутствие ответа на лечение и/или рецидив после лечения связывающим агентом по изобретению и/или другим терапевтическим агентом(ами) можно определить в соответствии с Критериями оценки реакции солидных опухолей; версия 1.1 (RECIST Criteria v1.1). Критерии RECIST приведены в таблице ниже.

Таблица 3: Определение ответа (RECIST Criteria v1.1)

	Категория	Критерий
На основе целевых очагов поражений	Полный ответ (CR)	Исчезновение всех целевых поражений. Любые патологические лимфатические узлы должны иметь уменьшение по короткой оси до < 10 мм.
	Частичный ответ (PR)	≥ 30% снижение в сумме LD целевых очагов поражений, принимая за основу исходную сумму LD.
	Стабильное заболевание	(SD) Отсутствует, как достаточное уменьшение, чтобы квалифицировать PR, так и достаточное увеличение, чтобы квалифицировать PD, принимая за основу наименьшую сумму LD с момента начала лечения.
	Прогрессирование заболевания (PD)	≥ 20% увеличение в сумме LD целевых очагов поражений, принимая за эталон наименьшую сумму LD, зарегистрированную с момента начала лечения или появления одного или нескольких новых поражений.
На основе нецелевых очагов поражений	CR	Исчезновение всех нецелевых очагов поражений и нормализация уровня онкомаркера. Все лимфатические узлы должны быть непатологического размера (< 10 мм по короткой оси).
	SD	Сохранение одного или нескольких нецелевых очагов поражений и/или поддержание уровня онкомаркера выше пределов нормы.
	PD	Появление одного или нескольких новых поражений и/или однозначное прогрессирование существующих нецелевых поражений.

«Наилучший общий ответ» — это наилучший ответ, зарегистрированный с начала лечения до прогрессирования/рецидива заболевания (в качестве эталона для PD будут использоваться наименьшие измерения, зарегистрированные с

момента начала лечения). Субъекты с CR или PR считаются с объективным ответом. Субъекты с CR, PR или SD считаются с заболеванием под контролем. Субъекты с НЭ считаются не ответившими. Наилучший общий ответ - это наилучший ответ, зарегистрированный с начала лечения до

5 прогрессирувания/рецидива заболевания (в качестве эталона для PD будут использоваться наименьшие измерения, зарегистрированные с момента начала лечения). Субъекты с CR, PR или SD считаются с заболеванием под контролем. Субъекты с НЭ считаются не ответившими.

10 «Продолжительность ответа (DOR)» применяется только к субъектам, у которых подтвержденный наилучший общий ответ представляет CR или PR, и определяется, как время от первой документации объективного ответа опухоли (CR или PR) до даты первого PD или смерти по причине рака.

15 «Выживаемость без прогрессирувания (PFS)» определяется, как количество дней с 1-го дня в 1-м курсе до первого документально подтвержденного прогрессирувания или смерти по любой причине.

«Общая выживаемость (OS)» определяется, как количество дней от 1-го дня в 1-м курсе до смерти по любой причине. Если известно, что субъект не умер, то OS будет подвергаться цензуре на самую последнюю дату, когда стало известно, что субъект жив (на дату окончания отчетного периода или перед ней).

20 «Таксановый химиотерапевтический агент» включает химиотерапевтические агенты, которые представляют таксаны, а также химиотерапевтические агенты, которые являются производными таксанов, такими как полусинтетические или синтетические производные таксанов.

25 Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «схема лечения» в контексте настоящего изобретения относится к структурированному плану лечения, предназначенному для улучшения и поддержания здоровья.

В первом аспекте настоящее изобретение относится к способу уменьшения или профилактики прогрессирувания опухоли или лечения рака у субъекта, включая обеспечение субъекта комбинированным лечением:

30 I) связывающим агентом, содержащим первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающуюся область, связывающуюся с человеческим PD-L1; и

II) таксановым химиотерапевтическим агентом.

Предпочтительно связывающий агент и таксановый химиотерапевтический агент вводят указанному субъекту по меньшей мере в одном курсе лечения, таком как множество курсов лечения без прогрессирования (pf); например, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 курсов лечения.

Дополнительно, предпочтительно связывающий агент представляет таковой, в котором первичная связывающая область связывается с человеческим CD137, имеющим последовательность, представленную в SEQ ID NO: 24, и/или вторая связывающая область связывается с человеческим PD-L1, имеющим последовательность, представленную в SEQ ID NO: 26.

Связывающий агент может представлять такой, который активирует человеческий CD137 при связывании с ним и ингибирует связывание человеческого PD-L1 с человеческим PD-1 при связывании с PD-L1, в конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения связывающий агент по настоящему изобретению связывается с человеческим PD-L1, посредством чего связывание человеческого PD-L1 с человеческим PD-1 ингибируется или блокируется, и в котором посредством связывания с человеческим PD-L1 связывающий агент также опосредует условную ко-стимуляцию 4-1BB, такую как усиление функции Т-клеток и НК-клеток.

В способе по настоящему изобретению связывающий агент может представлять таковой, где

а) первая связывающая область включает, состоит или по существу состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 1, и вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 5;

и

б) вторая антиген-связывающая область включает, состоит или по существу состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 8, и вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 12.

В способе по настоящему изобретению связывающий агент может представлять таковой, где

а) первая связывающая область включает, состоит или по существу состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей последовательности CDR1, CDR2, и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 2, 3 и 4, соответственно, и вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей последовательности CDR1, CDR2, и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 6, GAS, 7, соответственно;

и

б) вторая антиген-связывающая область включает, состоит или по существу состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 9, 10, 11, соответственно, и вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 13, DDN, 14, соответственно.

Дополнительно, в способе по настоящему изобретению связывающий агент может представлять таковой, где

а) первая связывающая область включает, состоит или по существу состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 1 и вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 5;

и

б) вторая связывающая область включает, состоит или по существу состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8 и вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12.

В способе по настоящему изобретению связывающий агент представляет таковой, где

а) первая связывающая область включает, состоит или по существу состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, и вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5;

и

б) вторая связывающая область включает, состоит или по существу состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8, и вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 12.

Связывающий агент в частности может представлять антитело, такое как мультиспецифическое антитело, или такое как биспецифическое антитело.

Также связывающий агент может быть в формате полноразмерного антитела или фрагмента антитела.

Дополнительно предпочтительно антитело представляет человеческое антитело или гуманизированное антитело.

Каждая вариабельная область может содержать три определяющие комплементарность области (CDR1, CDR2 и CDR3), и четыре каркасные области (FR1, FR2, FR3 и FR4).

Определяющие комплементарность области и каркасные области могут быть расположены от амино-конца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Связывающий агент может содержать

I) полипептид, содержащий, состоящий или по существу состоящий из указанной вариабельной области первой тяжелой цепи (VH) и константной области первой тяжелой цепи (CH), и

II) полипептид, содержащий, состоящий или по существу состоящий из указанной вариабельной области второй тяжелой цепи (VH) и константной области второй тяжелой цепи (CH).

В способе по настоящему изобретению связывающий агент может содержать, состоять или по существу состоять из

5 I) полипептида, содержащего указанную переменную область первой легкой цепи (VL) и дополнительно содержащего константную область первой легкой цепи (CL), и

II) полипептида, содержащего указанную переменную область второй легкой цепи (VL) и дополнительно содержащего константную область второй легкой цепи (CL).

10 Связывающий агент может представлять антитело, содержащее первое связывающее плечо и второе связывающее плечо, причем первое связывающее плечо включает, состоит или по существу состоит из

I) полипептида, содержащего указанную переменную область первой тяжелой цепи (VH) и указанную константную область первой тяжелой цепи (CH), и

15 II) полипептида, содержащего указанную переменную область первой легкой цепи (VL) и указанную константную область первой легкой цепи (CL);

и второе связывающее плечо включает, состоит или по существу состоит из

20 I) полипептида, содержащего указанную переменную области второй тяжелой цепи (VH) и указанную константную область второй тяжелой цепи (CH), и

II) полипептида, содержащего указанную переменную область второй легкой цепи (VL) и указанную константную область второй легкой цепи (CL).

Связывающий агент может содержать, состоять или по существу состоять из

25 I) первой тяжелой цепи и легкой цепи, содержащей указанную антиген-связывающую область, способную связываться с CD137, и

II) второй тяжелой цепи и легкой цепи, содержащей указанную антиген-связывающую область, способную связываться с PD-L1,

30 Связывающий агент может содержать, состоять или по существу состоять из

I) первой тяжелой цепи и легкой цепи, содержащих указанную антиген-связывающую область, способную связываться с CD137, первая тяжелая цепь содержит константную область первой тяжелой цепи, и первая легкая цепь, содержит константную область первой легкой цепи; и

II) второй тяжелой цепи и легкой цепи, содержащих указанную антиген-связывающую область, способную связываться с PD-L1, вторая тяжелая цепь содержит вторую константную область тяжелой цепи, и вторая легкая цепь содержит вторую константную область легкой цепи.

5 Каждая из константных областей (СН) первой и второй тяжелых цепей может содержать одну или более константную область (СН1) тяжелой цепи 1, шарнирную область, константную область (СН2) тяжелой цепи 2 и константную область (СН3) тяжелой цепи 3, предпочтительно по меньшей мере шарнирную область, СН2 область и СН3 область.

10 Каждая из первой и второй константных областей (СНs) тяжелых цепей может содержать СН3 область, и где две СН3 области включают асимметричные мутации.

В указанной константной области (СН) первой тяжелой цепи может быть замещена по меньшей одна из аминокислот в положении, соответствующем
15 положению, выбранному из группы, состоящей из Т366, L368, К370, D399, F405, Y407, и К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, и в указанной константной области второй тяжелой цепи (СН) по меньшей одна из аминокислот в положении, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из Т366, L368, К370, D399, F405, Y407, и К409 в тяжелой
20 цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения первая и вторая тяжелые цепи не замещены в одних и тех же положениях.

Связывающий агент может представлять таковой, где (i) аминокислота в положении, соответствующем F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в
25 соответствии с нумерацией EU представляет L в указанной константной области первой тяжелой цепи (СН), и аминокислота в положении, соответствующем К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU представляет R в указанной константной области второй тяжелой цепи (СН), или (ii) аминокислота в положении, соответствующем К409 в тяжелой цепи
30 человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU представляет R в указанной первой тяжелой цепи, и аминокислота в положении, соответствующем F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU представляет L в указанной второй тяжелой цепи.

В способе по настоящему изобретению связывающий агент может представлять таковой, который индуцирует Fc-опосредованную эффекторную функцию в меньшей степени по сравнению с другим антителом, содержащим такие же первую и вторую антиген-связывающие области и две константные области тяжелой цепи (CH), содержащие шарнир человеческого IgG1, CH2 и CH3 области.

В частности, в способе может использоваться связывающий агент, где указанные первая и вторая константные области тяжелой цепи (CH) модифицированы таким образом, что антитело индуцирует Fc-опосредованную эффекторную функцию в меньшей степени по сравнению с идентичным антителом, которое содержит не модифицированные константные области первой и второй тяжелых цепей (CH). В частности, каждая не модифицированная первая и вторая константные области тяжелой цепи (CH) или обе не модифицированные первая и вторая CH могут содержать, состоять или по существу состоять из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 15.

Fc-опосредованную эффекторную функцию можно определить измерением связывания связывающего агента с рецепторами Fc γ , связывания с C1q или индуцирования Fc-опосредованного перекрестного связывания рецепторов Fc γ . В частности, Fc-опосредованную эффекторную функцию можно определить измерением связывания связывающего агента с C1q.

Константные области первой и второй тяжелой цепи связывающего агента могут быть модифицированы таким образом, что связывание C1q с указанным антителом снижено по сравнению с антителом дикого типа, предпочтительно снижено по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере менее на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97% или на 100%, где связывание с C1q предпочтительно определяют с помощью ELISA.

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, у которого, по меньшей мере в одной из указанных константных областей первой и второй тяжелых цепей (CH) одна или более из аминокислот находится в положении, соответствующем положениям L234, L235, D265, N297, и P331 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, и не являются L, L, D, N, и P, соответственно.

В связывающем агенте, используемом по настоящему изобретению, положения, соответствующие положениям L234 и L235 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, могут представлять F и E, соответственно, в указанной первой и второй тяжелых цепях.

5 В частности, положения, соответствующие положениям L234, L235, и D265 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, могут представлять F, E и A, соответственно, в указанных константных областях первой и второй тяжелых цепей (CH).

10 Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где положения, соответствующие положениям L234 и L235 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, константных областей обеих первой и второй тяжелых цепей представляют F и E, соответственно, и где (I) положение, соответствующее F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, константной области
15 первой тяжелой цепи представляет L, и положение, соответствующее K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, второй тяжелой цепи представляет R, или (II) положение, соответствующее K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, константной области первой тяжелой цепи представляет R, и положение, соответствующее
20 F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, второй тяжелой цепи представляет L.

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где положения, соответствующие положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с
25 нумерацией EU, в константных областях обеих, и первой и второй тяжелых цепей представляют F, E, и A, соответственно, и где (I) положение, соответствующее F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, константной области первой тяжелой цепи представляет L, и положение, соответствующее K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в
30 соответствии с нумерацией EU, константной области второй тяжелой цепи представляет R, или (II) положение, соответствующее K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, первой тяжелой цепи представляет R, и положение, соответствующее F405 в тяжелой цепи

человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, второй тяжелой цепи представляет L.

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 15 [IgG1-FC],

б) подпоследовательности последовательности а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как указано в а); и

в) последовательность, имеющая максимально 10 замен, такая как имеющая максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, указанной/определенной в а) или б).

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению может представлять таковой, где константная область указанной первой или второй тяжелой цепи, такой как вторая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 16 [IgG1-F405L],

б) подпоследовательности последовательности в а), такая как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как указано/определено в а); и

в) последовательности, имеющей максимально 9 замен, такой как имеющей максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, указанной в а) или б).

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где константная область указанной первой или второй тяжелой цепи, такой как первая тяжелая цепь, содержит или состоит, или

по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 17 [IgG1-F409R]

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как

5 подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10

последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как указано в а); и

в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как

10 имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, указанной в а) или б).

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где константная область указанной первой и/или 15 второй тяжелой цепи содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 18 [IgG1-Fc_FEA],

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как

20 подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10

последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как указано в а); и

в) последовательности, имеющей максимально 7 замен, такой как имеющей

максимально 6 замен, максимально 5, максимально 4, максимально 3,

максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной

25 последовательностью, указанной в а) или б).

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению может представлять таковой, где константная область указанной первой и/или 30 второй тяжелой цепи, такой как вторая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 20 [IgG1-Fc_FEAL],

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как

подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10

последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как указано в а); и

5 в) последовательности, имеющей максимально 6 замен, такой как имеющей максимально 5 замен, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, указанной в а) или б).

10 Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи, такая как первая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 19 [IgG1-Fc_FEAR]

15 б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как указано в а); и

20 в) последовательности, имеющей максимально 6 замен, такой как имеющей максимально 5 замен, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, указанной в а) или б).

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может содержать каппа (κ) константную область легкой цепи.

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может содержать лямбда (λ) константную область легкой цепи.

25 Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где указанная константная область первой легкой цепи представляет каппа (κ) константную область легкой цепи.

30 Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где указанная константную область второй легкой цепи представляет лямбда (λ) константную область легкой цепи.

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где указанная константная область первой легкой цепи представляет лямбда (λ) константную область легкой цепи.

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где константная область второй легкой цепи представляет каппа (κ) константную область легкой цепи.

5 Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где каппа (κ) легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 21,

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалена/удалены, начиная с N-конца или C-конца указанной последовательности в а); и

в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или 15 максимально 1 замену, по сравнению с аминокислотной последовательностью, указанной в а) или б).

Связывающий агент, используемый в способе по настоящему изобретению, может представлять таковой, где лямбда (λ) легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

20 а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 22,

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалена/удалены, начиная с N-конца или C-конца указанной последовательности в а); и

в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или 25 максимально 1 замену, по сравнению с аминокислотной последовательностью, указанной в а) или б).

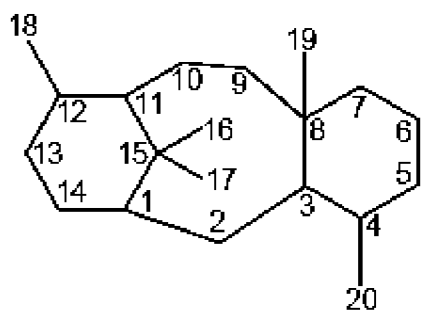
30 Связывающий агент может представлять изотип, выбранный из группы, состоящей из: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

В частности, связывающий агент может представлять полноразмерное антитело IgG1.

В по существу предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения антитело представляет антитело IgG1m(f) аллотипа IgG1m(f).

Предпочтительно указанный связывающий агент или антитело представляет акасунлимаб или его биоаналог.

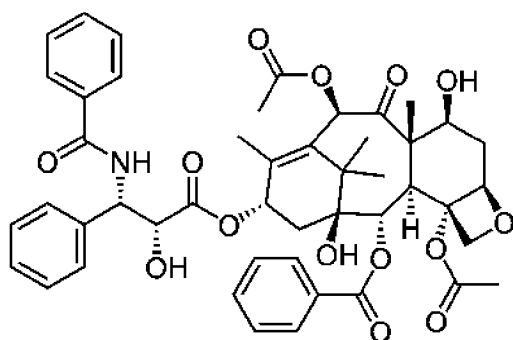
- 5 Таксаны представляют собой класс дитерпенов, некоторые из которых используются или разрабатываются для использования в качестве химиотерапевтических средств, включая паклитаксел и доцетаксел, которые проявляют противоопухолевую активность, вызывая стабилизацию клеточных микротрубочек, тем самым ингибируя деление клеток. Таксан имеет
- 10 молекулярную формулу $C_{20}H_{36}$ $C_{20}H_{36}$ и следующую химическую структуру:



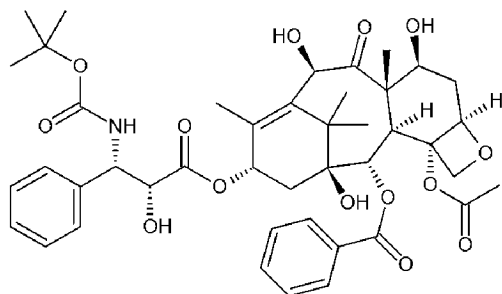
- Таксановый химиотерапевтический агент, в частности, может представлять выбранный из группы, состоящей из: доцетаксела, паклитаксела, кабазитаксела и тезетаксела.
- 15

Паклитаксел был впервые одобрен FDA в 1992 году и доступен на рынке под брендом/торговой маркой Таксол (Taxol), Абраксан (Abraxane).

Молекулярная формула паклитаксела представляет: $C_{47}H_{51}NO_{14}$, и он имеет следующую химическую структуру:



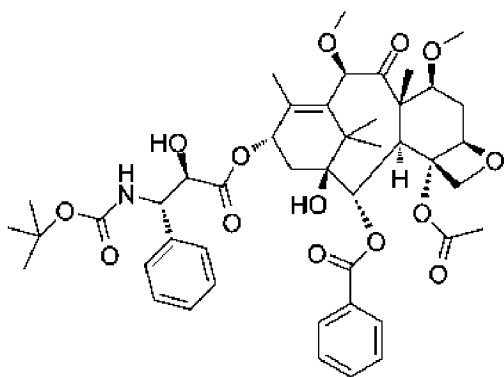
Доцетаксел был впервые одобрен FDA в 1996 году и доступен на рынке под брендом/торговой маркой Таксотер (Taxotere). Молекулярная формула доцетаксела представляет $C_{43}H_{53}NO_{14}$, и он имеет следующую химическую структуру:



5

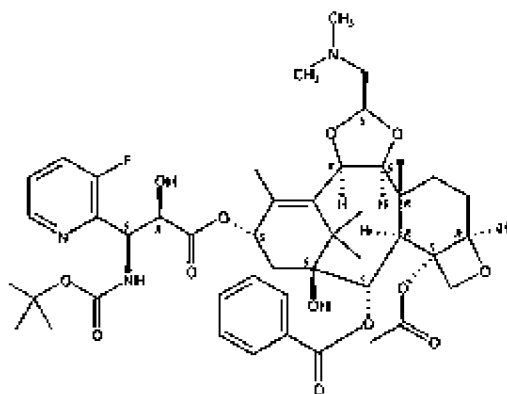
Кабазитаксел был впервые одобрен FDA в 2010 году и доступен на рынке под брендом/торговой маркой Джевтана (Jevtana). Молекулярная формула кабазитаксела представляет $C_{45}H_{57}NO_{14}$ и имеет следующую химическую структуру:

10



Тезетаксел представляет собой полусинтетическое перорально биодоступное производное таксана с химической формулой $C_{46}H_{60}FN_3O_{13}$.

15 $C_{46}H_{60}FN_3O_{13}$. Химическая формула тезетаксела представляет:



В по существу предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения таксановый химиотерапевтический препарат представляет

5 доцетаксел.

Количество связывающего агента, вводимого в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, может составлять:

а) около 0,3-15 мг/кг массы тела или в целом около 25-1200 мл; и/или

б) около $2,1 \times 10^{-9} - 1,2 \times 10^{-7}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times$
 10 $10^{-7} - 8,1 \times 10^{-6}$ моль.

Количество связывающего агента, вводимого в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, также может составлять:

а) около 0,3-10 мг/кг массы тела или в целом около 25-800 мл; и/или

б) около $2,1 \times 10^{-9} - 6,8 \times 10^{-8}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times$
 15 $10^{-7} - 5,4 \times 10^{-6}$ моль.

Дополнительно количество связывающего агента, вводимого в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, может составлять

а) около 0,3-5 мг/кг массы тела или в целом около 25-400 мг; и/или

б) около $2,1 \times 10^{-9} - 3,4 \times 10^{-8}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times$
 20 $10^{-7} - 2,7 \times 10^{-6}$ моль.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения количество связывающего агента, вводимого в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, может составлять

а) около 1,25 мг/кг массы тела или в целом около 100 мл; и/или

б) около $8,5 \times 10^{-9}$ моль/кг массы тела или в целом около $6,8 \times 10^{-7}$ моль.

Количество таксанового химиотерапевтического агента, вводимого в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, может составлять около 10-200

мг/м², такое как 20-40 мг/м², 30-50 мг/м², 40-100 мг/м², 50-100 мг/м², 50-80 мг/м², 50-70 мг/м², 50-60 мг/м², 50-110 мг/м², 60-100 мг/м², 60-100 мг/м², 60-90 мг/м², 70-80 мг/м², 80-200 мг/м², 90-180 мг/м², 90-110 мг/м², 100-175 мг/м² или такое как около 170-180 мг/м².

5 В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения таксановый химиотерапевтический агент представляет доцетаксел и количество, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения составляет около 50-60 мг/м², такое, как около 55 мг/м².

10 В других вариантах осуществления настоящего изобретения таксановый химиотерапевтический агент представляет доцетаксел и количество, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет около 70-80 мг/м², такое, как около 75 мг/м².

15 Следует понимать, что в схемах лечения по настоящему изобретению количество таксанового химиотерапевтического агента первоначально может быть назначено в дозировке, указанной выше, а затем доза может быть снижена, чтобы избежать или уменьшить побочные эффекты. Снижение дозы может, в частности, осуществляться в соответствии с инструкцией по применению и/или в соответствии с установленной местной клинической практикой. Например, хотя количество таксанового химиотерапевтического агента, вводимого в 20 каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, может первоначально составлять около 50-60 мг/м², такое, как около 55 мг/м² или около 70-80 мг/м², такое, как около 75 мг/м², количество вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, позже может быть снижено до 20-40 мг/м², такого как до 35 мг/м².

25 Связывающий агент и/или таксановый химиотерапевтический агент, используемый по настоящему изобретению, в частности, может вводиться системно.

Предпочтительно связывающий агент и/или таксановый химиотерапевтический агент вводят указанному субъекту путем внутривенной инъекции или инфузии

30 По меньшей мере одну дозу указанного связывающего агента и по меньшей мере одну дозу указанного таксанового химиотерапевтического препарата можно вводить в каждом курсе лечения.

Каждый курс лечения может составлять одну неделю (7 дней), две недели (14 дней), три недели (21 день) или четыре недели (28 дней).

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения каждую дозу вводят или вливают один раз в каждую неделю, один раз в каждую вторую неделю (1Q2W), один раз в каждую третью неделю (1Q3W) или один раз в каждую четвертую неделю (1Q4W).

5 Связывающий агент и таксановый химиотерапевтический агент может вводиться в один и тот же день.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения каждую дозу указанного связывающего агента вливают в течение минимум более 30 минут, например, минимум более 60 минут, минимум 90 минут, минимум 120
10 минут или минимум 240 минут.

В способе по настоящему изобретению введение связывающего агента предпочтительно предшествует введению таксанового химиотерапевтического агента по меньшей мере на 30 минут, например, по меньшей мере на 1 час или такое как по меньшей мере на 2 часа.

15 Что касается дозировки связывающего агента и таксанового химиотерапевтического агента по настоящему изобретению, то следует понимать, что введение множества малых доз в течение короткого промежутка времени; например в течение 2-24 часов, например, 2-12 часов или в тот же день, может считаться равнозначным введению большой разовой дозы. Например,
20 инфузия 25 мг связывающего агента четыре раза в один и тот же день может считаться эквивалентной однократной дозе 100 мг при непрерывной инфузии.

В по существу предпочтительной схеме лечения одну дозу указанного связывающего агента и/или одну дозу указанного таксанового химиотерапевтического агента вводят в 1-й день каждого курса лечения.

25 В частности, одну дозу указанного связывающего агента можно вводить каждую третью неделю (1Q3W), например, в 1-й день каждого трехнедельного курса лечения.

По существу предпочтительно, одну дозу указанного таксанового химиотерапевтического агента вводят каждую третью неделю (1Q3W),
30 например, в 1-й день каждого трехнедельного курса лечения.

Способ по любому из предшествующих пунктов, где каждой дозе таксанового химиотерапевтического агента предшествует премедикация, такая как премедикация стероидами, например, для снижения частоты и выраженности задержки жидкости, а также выраженности реакций гиперчувствительности.

Премедикация стероидами может быть проведена, например, пероральным кортикостероидом; например, введением около 8 мг дексаметазона 2 раза в день в течение 3 дней, начиная за 1 день до введения таксанового химиотерапевтического агента.

5 Субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, предпочтительно является человеком.

Опухоль или рак предпочтительно представляет солидную опухоль.

Опухоль или рак может быть выбран из группы, состоящей из: меланомы, рака яичников, рака легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), колоректального рака, рака головы и шеи, рака желудка, рака молочной железы, рака почки, рака уротелия, рака мочевого пузыря, рака пищевода, рака поджелудочной железы, рака печени, тимомы и карциномы тимуса, рака головного мозга, глиомы, аденокарциномы, рака щитовидной железы, других видов рака кожи, саркомы, множественной
10 миеломы, лейкемии, лимфомы, миелодиспластического синдрома, рака яичников, рака эндометрия, рака предстательной железы, рака полового члена, рака шейки матки, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, карциномы Меркеля и мезотелиомы.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения опухоль или рак выбирают из группы, состоящей из: рака легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), рака уротелия (рак мочевого пузыря, мочеточника, мочеиспускательного канала или почечной лоханки), рака эндометрия (EC), рака молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), плоскоклеточной карциномы головы и шеи (SCCHN)
20 (например, рака полости рта, глотки или гортани) и рака шейки матки.

Опухоль или рак, в частности, может представлять рак легкого.

Рак легкого может представлять немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), такой как плоскоклеточный или не плоскоклеточный NSCLC.

Рак легкого является наиболее распространенным злокачественным
30 новообразованием и является наиболее частой причиной смерти от рака во всем мире. Немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) составляет 85-90% всех случаев рака легкого (Jemal et al., 2011). Пятилетняя выживаемость при NSCLC составляет примерно 18% (SEER, 2018). Основные гистологические подтипы NSCLC включают аденокарциному, плоскоклеточную карциному, железисто-

плоскоклеточную карциному, крупноклеточную карциному, карциноидные опухоли и другие менее распространенные подтипы, причем аденокарцинома является наиболее распространенной.

5 Стандарт лечения пациентов с прогрессирующим или метастатическим NSCLC, у которых наблюдалось прогрессирование при целевой терапии или которые больше не являются кандидатами для целевой терапии, как правило, включает химиотерапию на основе препаратов платины. Комбинации платины обеспечивают общую частоту ответа (ORR) приблизительно 25-35%, время до прогрессирования (TTP) 4,6 месяца и медиану выживаемости 8-10 месяцев.

10 Были идентифицированы мутации/изменения гена опухоли, которые влияют на выбор терапии. Идентификация специфических мутаций или изменений в генах опухоли, таких как киназа анапластической лимфомы (ALK), рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), онкоген c-ROS 1 (ROS1), BRAF, KRAS и лиганд программируемой смерти-1 (PD-L1) помогает выбрать
15 потенциально эффективные целевые методы лечения, избегая при этом использования методов лечения, которые вряд ли принесут клиническую пользу (NCCN, 2018c). Активирующие сенсibiliзирующие мутации EGFR являются предикторами ответа на ингибиторы тирозинкиназы (TKI) EGFR (например, гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб и осимертиниб). Аналогично TKI (например, алектиниб, церитиниб и кризотиниб) являются эффективными препаратами для
20 лечения мутаций ALK и ROS1, а также одобрены в качестве терапии первой линии для соответствующих мутаций. Антитела-ингибиторы контрольных точек (например, пембролизумаб и ниволумаб), которые блокируют взаимодействие PD-1 и PD-L1, также показали себя как эффективные средства лечения как
25 таковые или в сочетании с химиотерапией для лечения пациентов с прогрессирующим или метастатическим NSCLC, опухоли которых экспрессируют PD-L1.

Несмотря на множество вариантов лечения, пациенты с IV стадией NSCLC в конечном итоге имеют неблагоприятный прогноз, и рак легкого остается
30 основной причиной смерти от рака, как у мужчин, так и у женщин. Скорость лечения снижается с каждой линией терапии, так как пациенты умирают от рака или испытывают ухудшение состояния здоровья, что делает дальнейшее лечение невозможным.

Рак легкого может представлять NSCLC, который не имеет сенсibiliзирующей мутации эпидермального фактора роста (EGFR) и/или транслокации киназы анапластической лимфомы (ALK)/перестройки ROS1. Сенсibiliзирующие мутации EGFR относятся к мутациям, которые придают чувствительность к ингибиторам тирозинкиназы (TKI) EGFR, таким как одобренные ингибиторы тирозинкиназы эрлотиниб, осимертиниб, gefintиниб, олмутиниб, назартиниб и авитиниб.

Аминокислотная последовательность рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) представлена в настоящем документе, SEQ ID NO: 27.

Сенсibiliзирующая мутация аминокислотной последовательности рецепторов эпидермального роста (EGFR) может быть выбрана из группы, состоящей из:

I) Делеции внутри рамки считывания и необязательно вставки одной или более аминокислоты в положении 746-751, такой как любая из делеций и вставок как приведено в Таблице 4,

II) Замены одной аминокислоты в любом из положений 709, 715, 719, 720, 768, 858 и 861, такой как любая из делеций и вставок, как приведено в Таблице 5, и

III) Дупликация и/или вставка внутри рамки считывания, выбранной из дупликаций/вставок, как приведено в Таблице 6;

нумерация аминокислот относится к нумерации аминокислот в SEQ ID NO: 27.

Обозначение	Изменение аминокислоты
Δ1	E746–A750 del
Δ2	E746–A750 del
Δ3	L747–T751 del
Δ4	L747–E749 del P ins
Δ5	L747–T750 del P ins
Δ6	L747–S752 del S ins
Δ7	E746–T751 del V ins
Δ8	L747–S752 del
Δ9	E746–T751 del I ins
Δ10	E746–A750 del V ins
Δ11	L747–S752 del Q ins

Таблица 4: Делеции внутри рамки считывания в экзоне 19 гена EGFR человека (По материалам Shigematsu *et al.*, Clinical and Biological Features

Associated With Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutations in Lung Cancers, JNCI: Journal of the National Cancer Institute, Volume 97, Issue 5, 2 March 2005). del = делеция; ins = вставка.

Обозначение	Изменение аминокислоты
M1	L858R
M2	E709V
M3	I715S
M4	G719C
M5	G719S
M6	G719A
M7	S720F
M8	S768I
M9	L861Q

5 Таблица 5: Замена одного нуклеотида и результирующая замена аминокислоты в экзоне 21 гена EGFR человека (По материалам Shigematsu *et al.*, Clinical and Biological Features Associated With Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutations in Lung Cancers, JNCI: Journal of the National Cancer Institute, Volume 97, Issue 5, 2 March 2005).

Обозначение	Изменение аминокислоты
D1	ASV770-772 ins
D2	H774 ins
D3	G771 ins
D4	CV770-771 ins
D5	NP773-774 ins, H775Y
D6	PH774-775 ins
D7	NPH774-776 ins
D8	HV775-776 ins

10

15 Таблица 6: Дубликации и/или вставки внутри рамки считывания в экзоне 20 гена EGFR человека (По материалам Shigematsu *et al.*, Clinical and Biological Features Associated With Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutations in Lung Cancers, JNCI: Journal of the National Cancer Institute, Volume 97, Issue 5, 2 March 2005). ins = вставка.

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться и/или субъект, получающий лечение, может иметь по меньшей мере одну мутацию в аминокислотной последовательности EGFR, выбранную из L747S, D761Y, T790M, C797S, T854A, такую как T790M, C797S, D761Y, и двойные мутации

T790M/D761Y и T790/C797S; нумерация аминокислот относится к нумерации аминокислот в SEQ ID NO: 27.

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться экспрессией рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), выбранного из группы, состоящей из:

I. EGFR дикого типа человека; например, EFGR человека, который содержит последовательности, представленные в SEQ ID NO: 27, или его зрелый полипептид; и

II. EGFR человека, который представляет вариант EGFR в пункте I и который, по сравнению с EGFR в пункте I, не имеет каких-либо сенсibiliзирующих мутаций.

Немелкоклеточный рак легкого может представлять рак, не характеризующийся сенсibiliзирующей мутацией рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), выбранной из группы, состоящей из:

I) делеции внутри рамки считывания и необязательно вставки одной или более аминокислоты в положении 746-751, такой как любая из делеций и вставок, как приведено в Таблице 4.

II) замены одной аминокислоты в любом из положений 709, 715, 719, 720, 768, 858 и 861, такой как любая из делеций и вставок как приведено в Таблице 5, и

III) дубликации и/или вставки внутри рамки считывания, выбранной из дубликаций/вставок, как приведено в Таблице 6;

нумерация аминокислот относится к нумерации аминокислот в SEQ ID NO: 27. Аналогично, субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, может являться субъектом, не имеющим такой существенной сенсibiliзирующей мутации EGFR.

Немелкоклеточный рак легкого может представлять рак, для которого не характерна мутация в аминокислотной последовательности EGFR, выбранная из L747S, D761Y, T790M, C797S, T854A, такая как из T790M, C797S, D761Y, и двойные мутации T790M/D761Y и T790/C797S; нумерация аминокислот относится к нумерации аминокислот в SEQ ID NO: 27. Аналогично, субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, может являться субъектом, у которого нет ни одной из указанных мутаций.

Немелкоклеточный рак легкого и/или субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, может характеризоваться наличием мутации в гене, кодирующем тирозинкиназу ALK (ALK), что приводит к перестройке гена, кодирующего ALK (UniProt Q9UM73), геном, кодирующим партнера по слиянию, с образованием слитого онкогена.

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться и/или субъект, получающим лечение по настоящему изобретению, может иметь мутацию в гене, кодирующем ALK, указанная мутация приводит к перестройке гена, кодирующего ALK, геном (EML4), кодирующим белок, подобный ассоциированному с микротрубочками белку иглокожих типа 4 (EMAPL4) (UniProt Q9HC35) (и образование слитого онкогена EML4-ALK).

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться и/или субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, может иметь мутацию в гене, кодирующем тирозинкиназу ALK (ALK), приводящую к перестройке гена, кодирующего ALK, геном, выбранным из группа состоящей из:

- I. KIF5B, кодирующий тяжелую цепь кинезина-1 (KINH) (UniProt P33176),
- II. KLC1, кодирующий легкую цепь кинезина 1 (KLC1) (UniProt Q07866),
- III. TFG, кодирующий белок TFG (UniProt Q92734),
- IV. TPR, кодирующий нуклеопротеин TPR (UniProt P12270),
- V. HIP 1, кодирующий хантингтин-взаимодействующий белок 1 (HIP-1) (UniProtKB - O00291),
- VI. STRN, кодирующий стриатин (UniProtKB - O43815),
- VII. DCTN1, кодирующий субъединицу динактина 1 (UniProt Q14203),
- VIII. SQSTM1, кодирующий секвестосому-1 (UniProtKB - Q13501),
- IX. NPM1, кодирующий нуклеофозмин (UniProt P06748),
- X. BCL11A, кодирующий b-клеточную лимфому/лейкемию 11A (UniProt Q9H165), и
- XI. BIRC6, кодирующий белок, содержащий повтор бакуловируса IAP (UniProt Q13490);

и образование соответствующего слитого онкогена, выбранного из группы, состоящей из слитого онкогена KIF5B-ALK, слитого онкогена KLC1-ALK, слитого онкогена TFG-ALK, слитого онкогена TPR-ALK, слитого онкогена HIP1-ALK, слитого онкогена STRN-ALK, слитого онкогена DCTN1-ALK, слитого

онкогена SQSTM1-ALK, слитого онкогена NPM1-ALK, слитого онкогена BCL11A-ALK и слитого онкогена BIRC6-ALK.

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться экспрессией тирозинкиназы дикого типа ALK человека; например, тирозинкиназы ALK человека, которая содержит последовательность, представленную в UniProt Q9HC35 или его зрелого полипептида.

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться отсутствием мутации в гене, кодирующем тирозинкиназу ALK (ALK), что приводит к перестройке ALK партнером по слиянию с образованием слитого онкогена, и/или у субъекта отсутствует такая мутация.

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться отсутствием мутации в гене, кодирующем тирозинкиназу ALK (ALK), что приводит к перестройке гена (EML4), кодирующего белок, подобный ассоциированному с микротрубочками белку иглокожих типа 4 (EMAPL4) (UniProt Q9HC35) ALK (UniProt Q9HC35) и образованию слитого онкогена EML4-ALK, и/или субъектом может быть субъект, не имеющий такой мутации.

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться отсутствием мутации в любом гене, выбранном из группы, состоящей из гена, кодирующего тирозинкиназу ALK (ALK), гена (EML4), кодирующего белок, связанного с микротрубочками белку иглокожих типа 4 (EMAPL4) (UniProt Q9HC35).

Немелкоклеточный рак легкого может быть раком, который не характеризуется мутацией, выбранный из группы, состоящей из:

- сенсibiliзирующей мутации рецептора эпидермального фактора роста (EGFR),
- мутации в гене, кодирующем тирозинкиназу ALK (ALK), приводящую к перестройке EML4 ALK и образованию слитого онкогена EML4-ALK
- мутации в аминокислотной последовательности EGFR, которая индуцирует или придает устойчивость указанному субъекту к одному или нескольким ингибиторам тирозинкиназы EGFR; и
- субъект мог получать лечение ингибитором программируемой смерти клеток-1 (PD-1)/ лиганда программируемой смерти клеток-1 (PD-L1) (например, ниволумаб, генолимзумаб, атезолизумаб, дурвалумаб или авелумаб) или химиотерапией (например, химиотерапией, включающей платину,

таксан, пеметрексед и/или гемцитабин) и, возможно, были неэффективны при таком предшествующем лечении.

Немелкоклеточный рак легкого может характеризоваться мутацией, выбранной из группы, состоящей из:

5 - сенсibiliзирующей мутации рецептора эпидермального фактора роста (EGFR),

- мутации аминокислотной последовательности EGFR, которая индуцирует или придает резистентность указанному субъекту к одному или нескольким ингибиторам тирозинкиназы EGFR (EGFR-TKI),

10 - мутации в гене, кодирующем тирозинкиназу ALK (ALK), приводящую к перестройке EML4 ALK и образованию слитого онкогена EML4-ALK; и

субъект мог получать лечение ингибитором EGFR (например, эрлотинибом, осимертинибом, гефинтинибом, олмутинибом, назартинибом и авитинибом) или ингибитором PD-1/PD-L1 (например, ниволумабом,

15 генолимзумабом, атезолизумабом, дурвалумабом или авелумабом), и это предшествующее лечение оказалось неэффективным.

Субъект получил до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания для лечения рака легкого и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего

20 предшествующего системного лечения, например, прогрессирование заболевания, определяемое рентгенографией.

Перед получением лечения по настоящему изобретению субъект прошел курс химиотерапии на основе препаратов платины для лечения рака легкого. В качестве альтернативы, субъект может не соответствовать установленным

25 критериям для терапии на основе платины и получил альтернативную химиотерапию, например, лечение по схеме, содержащей гемцитабин.

Субъект, возможно, ранее получал лечение ингибитором(ами) контрольных точек для лечения рака легкого, такими как агент(ы), нацеленный(ые) на (белок) программируемой смерти клеток-1 (PD-1)/лиганд программируемой смерти 1

30 (PD-L1), такой как ингибитор PD -1/PD-L1. Предпочтительно субъекты должны пройти только одно предварительное лечение ингибитором PD-1/PD-L1, как таковым или в комбинации.

В частности, у субъекта может наблюдаться прогрессирование заболевания во время или после лечения ингибитором(ами) контрольных точек, такими как

агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, таким как ингибитор PD-1/PD-L1. Кроме того, у субъекта наблюдалось прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего лечения ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, таким как ингибитор PD-1/PD-L1.

В частности, ингибитор PD-1 и/или PD-L1 может содержать антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с PD-L1.

Известные ингибиторы PD-1 и/или PD-L1 включают пембролизумаб (Merck & Co), CBT-501 (генолизумаб; Genor bio/CBT Pharma), ниволумаб (BMS), REGN2810 (Cemiplimab; Regeneron), BGB-A317 (Tislelizumab; BeiGene/Celgene), Amp-514 (MEDI0680) (Amplimmune), TSR-042 (Dostarlimab; Tesaro/AnaptysBio), JNJ-63723283/JNJ-3283 (Johnson & Johnson), PF-06801591 (Pfizer), JS-001 (Триполибамаб/Торипалимаб; Shanghai Junshi Bio), SHR-1210/INCSHR-1210 (Камрелизумаб; Incyte corp), PDR001 (Спартализумаб; Novartis), BCD-100 (BioCad), AGEN2034 (Agenus), IBI-308 (Синтилимаб; Innovent Biologics), RG7446/MPDL-3280A (атезолизумаб; Roche), MSB-0010718C (авелумаб; Merck Serono/Pfizer) и MEDI-4736 (дурвалумаб; AstraZeneca), KN-035 (энвафолимаб; 3DMed/Alphamab Co.).

В частности, у субъекта может наблюдаться прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определяемое рентгенографией.

В качестве альтернативы, субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, может быть тем, кто не проходил предварительное лечение ингибитором(ами) контрольных точек для лечения указанного рака легкого, например, агентом(ами), нацеленным(и) на PD-1/PD-L, например, ингибитор PD-1/PD-L1; например, любой из указанных выше ингибиторов PD-1/PD-L1. В других вариантах осуществления настоящего изобретения опухоль или рак представляет рак эндометрия матки. В США, как и в других развитых странах с ростом заболеваемости во всем мире рак эндометрия матки (ЕС) был наиболее распространенным гинекологическим злокачественным новообразованием. В Соединенных Штатах в 2016 году было зарегистрировано 60 000 новых случаев заболевания и более 10 000 смертей. В 2012 во всем мире у 527 600 женщин был диагностирован ЕС матки. Большинство случаев ЕС выявляют на ранней стадии и лечат хирургическим путем с или без лучевой терапии или химиотерапии.

Однако пациенты с распространенным заболеванием имеют худший прогноз с 5-летней выживаемостью менее 50% для пациентов с метастазами в лимфатических узлах и менее 20% для пациентов с перитонеальными или отдаленными метастазами.

5 Мультиагентная химиотерапия является предпочтительным лечением для метастатического, рецидивирующего или при высоком риске заболевания; однако единого мнения о стандартном режиме нет. В качестве препаратов первой линии при распространенном/метастатическом или рецидивирующем ЕС все чаще используются карбоплатин и паклитаксел. Частота ответа на лечение карбоплатином и паклитакселом колеблется от 40% до 62% при OS около от 13 до 29 месяцев. Пациенты, у которых наблюдается прогрессирование заболевания при комбинированной терапии или которые не могут переносить полихимиотерапию, могут получать терапию одним агентом, однако варианты химиотерапии в этих условиях показали лишь скромную активность, особенно в 15 условиях второй линии и далее. Показатели ответа одного агента варьируются от 21% до 36% в условиях первой линии и от 4% до 27% в условиях второй линии (NCCN, 2018d).

Совсем недавно пембролизумаб продемонстрировал противоопухолевую активность у пациентов с местно-распространенным или метастатическим PD-L1-положительным ЕС, у которых наблюдалось прогрессирование во время или после стандартной терапии.

В частности, субъект или рак эндометрия, проходящих лечение по настоящему изобретению, может иметь подтвержденный гистологически рак эпителиального эндометрия, включающий эндометриоидную, серозную, 25 плоскоклеточную, светлоклеточную карциному или карциносаркому.

Субъект может получить до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания для лечения указанного рака эндометрия и может иметь прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как 30 прогрессирующее заболевание, определенное рентгенографией.

Субъект может быть тем, кто не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек для лечения указанного рака эндометрия, такими как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-

1/PD-L1; например, ингибитор PD-1/PD-L1, выбранный из приведенного выше списка ингибиторов PD-1/PD-L1.

В соответствии с другими вариантами осуществления настоящего изобретения опухоль или рак представляет рак уротелия, включая рак мочевого пузыря, мочеточника, мочеиспускательного канала или почечной лоханки.

Субъект может получить до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания для лечения указанного рака уротелия и может иметь прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определяемое рентгенографией.

Субъект, возможно, ранее получал лечение ингибитором(ами) контрольных точек для лечения указанного рака уротелия, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, таким как ингибитор PD-1/PD-L1; например, любой из указанных выше ингибиторов PD-1/PD-L1.

Дополнительно, субъект может быть тем, кто получал химиотерапию препаратами на основе платины для лечения указанного рака уротелия; то есть химиотерапию агентом, представляющим координационный комплекс платины. Примеры химиотерапии на основе препаратов платины включают лечение цисплатином, оксалиплатином и карбоплатином.

Субъект может быть тем, кто не соответствует установленным критериям для терапии препаратами на основе платины и получал альтернативную химиотерапию.

В других вариантах осуществления настоящего изобретения опухоль или рак представляет рак молочной железы, такой как трижды негативный рак молочной железы (TNBC). TNBC, как правило, относится к раку молочной железы, при котором отсутствует экспрессия рецептора эстрогена (ER), рецептора прогестерона (PR) и рецептора эпидермального фактора роста человека 2 (HER2). TNBC, в частности, может представлять HER2-отрицательный, например, такой как определено при использовании флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) или определении экспрессии белка иммуногистохимией.

Субъект мог получить по меньшей мере одну предшествующую схему системного лечения местно-прогрессирующего/метастатического заболевания для лечения указанного рака молочной железы, такую как, по меньшей мере

одну предшествующую схему системного лечения, включая схемы, включающие антрациклины, таксаны, антиметаболиты или ингибиторы микротрубочек.

В других вариантах осуществления субъект мог получить максимально 4 предшествующих схем системного лечения местно-прогрессирующего/метастатического заболевания для лечения указанного рака молочной железы, включая, по меньшей мере, одну предшествующую схему системного лечения, включающую антрациклин, таксан, антиметаболит или ингибитор микротрубочек.

Субъект мог получать предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек для лечения рака молочной железы, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1; например, любой из указанных выше ингибиторов PD-1/PD-L1.

Субъект может иметь прогрессирование заболевания во время или после указанного предшествующего лечения ингибитором(ами) контрольных точек для лечения рака молочной железы, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

В других вариантах осуществления настоящего изобретения субъект может быть тем, кто не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек для лечения рака молочной железы, такой как субъект, который не получал лечение агентом(ами), нацеленными на PD-1/PD-L, таким как ингибитор PD-1/PD-L1; например, указанные выше ингибиторы PD-1/PD-L1.

Опухоль или рак может представлять рак головы и шеи, такой как плоскоклеточная карцинома головы и шеи (SCCHN). Плоскоклеточная карцинома головы и шеи (SCCHN) является основной причиной смерти, ежегодно во всем мире диагностируется более 600 000 случаев. В 2018 году примерно у 64 690 человек в США ожидалось развитие рака полости рта, глотки или гортани, и, по оценкам, за тот же период ожидалось 13 740 смертей. Рак головы и груди может возникать в полости рта, глотке, гортани, полости носа, придаточных пазухах носа, щитовидной и слюнных железах. Употребление табака и алкоголя значительно повышают риск развития рака головы и шеи. Дополнительно, вирус папилломы человека (HPV) имеет причинно-следственную связь с плоскоклеточным раком ротоглотки (особенно миндалин и основания языка), и последние данные свидетельствуют о том, что HPV также может быть связан с повышенным риском плоскоклеточной карциномы гортани.

У пациентов с локально HPV-положительным раком головы и шеи улучшились исходы в ответ на лечение, PFS и OS, по сравнению с HPV -отрицательными опухолями.

Лечение рака головы и шеи сложное и требует мультидисциплинарного подхода. Прогноз у пациентов с рецидивирующим или метастатическим SCCHN, как правило, неблагоприятный, средняя выживаемость составляет около от 6 до 12 месяцев в зависимости от общего состояния пациента и факторов, связанных с заболеванием. Терапия первой линии у подходящих пациентов включает цетуксимаб с цисплатином или карбоплатином плюс 5-фторурацил (5-FU).
5
10
Добавление цетуксимаба привело к пролонгированной выживаемости по сравнению с терапией только платиной и 5-FU (10,1 месяца по сравнению с 7,4 месяца), наряду с пролонгированным mPFS (3,3 месяца по сравнению 5,6 месяца).

Монохимиотерапия рекомендуется для пациентов с более слабым общим состоянием. В прошлом наиболее широко применялись средства для монотерапии, включающие соединения платины, таксаны, наб-паклитаксел, метотрексат, фторурацил и цетуксимаб.
15

В США и ряде других стран пембролизумаб и ниволумаб одобрены для лечения пациентов с прогрессированием заболевания (PD) после химиотерапии, содержащей препараты платины. Хотя данные испытаний, изучающих активность средства для монотерапии, нацеленного на PD-1, кажутся обнадеживающими, частота ответов остается низкой.
20

В частности, опухоль или рак может быть рецидивирующим или метастатическим SCCHN.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения, относящихся к SCCHN, опухоли или раку, рак представляет рак полости рта, глотки или гортани.
25

Субъект может получить до четырех предшествующих схем системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания для лечения SCCHN и может иметь прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.
30

Субъект мог получать химиотерапию на основе препаратов платины для лечения SCCHN, такое как лечение цисплатином, оксалиплатином и карбоплатином.

5 В качестве альтернативы, субъект может не соответствовать установленным критериям для терапии препаратами на основе платины и мог получать альтернативную химиотерапию для лечения SCCHN.

10 Субъект может быть тем, кто получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек для лечения SCCHN, таким как агент(ы), нацеленный на PD-1/PD-L, таким как ингибитор PD-1/PD-L1; например, приведенные выше ингибиторы PD-1/PD-L1.

Субъект может иметь прогрессирование заболевания во время или после указанного предшествующего лечения ингибитором(ами) контрольных точек, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

15 В других вариантах осуществления настоящего изобретения субъект может быть тем, кто не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный на PD-1/PD-L, таким как ингибитор PD-1/PD-L1; например, субъект, который не получал лечение любым из приведенных выше ингибиторов PD-1/PD-L1.

20 В других вариантах осуществления настоящего изобретения опухоль или рак представляет рак шейки матки. Рак шейки матки представляет серьезную медицинскую проблему во всем мире с предполагаемой заболеваемостью более чем 500 000 новых случаев. По оценкам, в 2017 в США произошло около 12 800 новых случаев заболевания и 4 210 смертей. Средний возраст с диагнозом рака шейки матки составляет 49 лет в США и еще моложе в развивающихся странах. 25 При этом 5-летняя выживаемость пациентов в США, у которых диагностировано локализованное заболевание, составляет 91%, прогноз для пациентов с распространенным заболеванием остается неблагоприятным. Пятилетняя выживаемость при распространенном/метастатическом заболевании составляет менее чем 35%.

30 Терапия первой линии рецидивирующего или метастатического рака шейки матки включает бевацизумаб в сочетании с паклитакселом и препаратами платины (цисплатин или карбоплатин) или паклитаксел и топотекан. Несмотря на ORR 48% и медиану OS около 18 месяцев, почти у всех пациентов после этого лечения первой линии возникал рецидив. В качестве терапии второй линии

в США одобрен пембролизумаб для лечения пациентов с рецидивирующим или метастатическим раком шейки матки с прогрессированием заболевания во время или после химиотерапии и опухоли которых экспрессируют PD-L1, что определяется тестом, одобренным FDA. Однако дополнительных утвержденных терапий не существует, пациентов часто лечат методами монотерапии, включая, помимо прочего: пеметрексед, топотекан, доцетаксел, наб-паклитаксел, винорелбин и, в некоторых случаях, бевацизумаб.

Частота ответов на лечение средствами для монотерапии очень низкая (диапазон: 0–15%), и по этой причине популяция с раком шейки матки остается популяцией с очень высокими неудовлетворенными медицинскими потребностями. Рак шейки матки имеет гистологический подтип, в частности, подтип представляет плоскоклеточную карциному, аденокарциному или аденоплоскоклеточную карциному.

Субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, может быть субъектом, который получал по меньшей мере одну предшествующую схему системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания для лечения указанного рака шейки матки, такую как химиотерапия в комбинации с лечением, нацеленным на фактор роста эндотелия сосудов А, такое как лечение бевацизумабом, и у которого наблюдалось прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, например прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

Субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, может быть субъектом, который получал максимально 4 предшествующие схемы системного лечения для рецидивирующего/метастатического заболевания, включая химиотерапию в комбинации с лечением, нацеленным на фактор роста эндотелия сосудов А, таким как лечение с помощью бевацизумабом.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъект, получающий лечение по настоящему изобретению, является субъектом, который не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1; например, субъект, который не получал лечение любым из приведенных выше ингибиторов PD-1/PD-L1.

Предпочтительно субъект является особью женского пола.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к композиции, такой как фармацевтическая композиция, содержащая таксановый химиотерапевтический агент и связывающий агент, содержащий первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1.

Предпочтительно количество связывающего агента в композиции составляет около 25-1200 мг или около $1,7 \times 10^{-7} - 8,1 \times 10^{-6}$ моль, такое как 25-1200 мг или $1,7 \times 10^{-7} - 8,1 \times 10^{-6}$ моль; около 25-800 мг или около $1,7 \times 10^{-7} - 5,4 \times 10^{-6}$ моль, такое как 25-800 мг или $1,7 \times 10^{-7} - 5,4 \times 10^{-6}$ моль или около 25-400 мг или около $1,7 \times 10^{-7} - 2,7 \times 10^{-6}$ моль, такое как 25-400 мг или $1,7 \times 10^{-7} - 2,7 \times 10^{-6}$ моль.

Количество связывающего агента, вводимого в указанную композицию, в частности, может составлять:

около 25-320 мг или около $1,7 \times 10^{-7} - 2,2 \times 10^{-6}$ моль, такое как 25-320 мг или $1,7 \times 10^{-7} - 2,2 \times 10^{-6}$ моль;

около 30-320 мг или около $2,4 \times 10^{-7} - 2,2 \times 10^{-6}$ моль; такое как 30-320 мг или $2,4 \times 10^{-7} - 2,2 \times 10^{-6}$ моль;

около 40-260 мг или около $2,7 \times 10^{-7} - 1,8 \times 10^{-6}$ моль, такое как 40-260 мг или $2,7 \times 10^{-7} - 1,8 \times 10^{-6}$ моль;

около 50-200 мг или около $3,4 \times 10^{-7} - 1,4 \times 10^{-6}$ моль, такое как 50-200 мг или $3,4 \times 10^{-7} - 1,4 \times 10^{-6}$ моль;

около 60-140 мг или около $4,1 \times 10^{-7} - 9,5 \times 10^{-7}$ моль, такое как 60-140 мг или $4,1 \times 10^{-7} - 9,5 \times 10^{-7}$ моль; около 70-140 мг или около $4,8 \times 10^{-7} - 9,5 \times 10^{-7}$ моль, такое как 70-140 мг от $4,8 \times 10^{-7} - 9,5 \times 10^{-7}$ моль;

около 80-120 мг или около $5,5 \times 10^{-7} - 8,2 \times 10^{-7}$ моль, такое как 80-120 мг или $5,5 \times 10^{-7} - 8,2 \times 10^{-7}$ моль;

около 90-110 мг или около $6,1 \times 10^{-7} - 7,5 \times 10^{-7}$ моль, такое как 90-110 мг или $6,1 \times 10^{-7} - 7,5 \times 10^{-7}$ моль;

около 95-105 мг или около $6,5 \times 10^{-7} - 7,2 \times 10^{-7}$ моль, такое как 95-105 мг или $6,5 \times 10^{-7} - 7,2 \times 10^{-7}$ моль;

около 65-120 мг или около $4,4 \times 10^{-7} - 8,2 \times 10^{-7}$ моль, такое как 65-120 мг или $4,4 \times 10^{-7} - 8,2 \times 10^{-7}$ моль;

около 70-100 мг или около $4,8 \times 10^{-7} - 6,8 \times 10^{-7}$ моль, такое как 70-100 мг или $4,8 \times 10^{-7} - 6,8 \times 10^{-7}$ моль; или около 75-90 мг или около $5,1 \times 10^{-7} - 6,1 \times 10^{-7}$ моль, такое как 75-90 мг или $5,1 \times 10^{-7} - 6,1 \times 10^{-7}$ моль.

5 Композиция или фармацевтическая композиция может быть составлена с носителем, наполнителем и/или разбавителем, а также с любыми другими компонентами, подходящими для фармацевтических композиций, включая известные адъюванты, в соответствии с традиционными технологиями, такими как описанные в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995. Фармацевтически приемлемые носители или разбавители, а также любые известные адъюванты и 10 наполнители должны подходить для антитела или конъюгата антитела по настоящему изобретению и выбранного способа введения. Пригодность носителей и других компонентов фармацевтических композиций определяется на основании отсутствия значительного отрицательного влияния на желаемые 15 биологические свойства выбранного соединения или фармацевтической композиции настоящего изобретения (например, незначительное влияние [10% или менее относительно ингибирования, 5% относительно ингибирования и т.д.] после связывания антигена).

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может 20 включать разбавители, наполнители, соли, буферы, детергенты (например, неионогенный детергент, такой как Tween-20 или Tween-80), стабилизаторы (например, сахара или не белковые аминокислоты), консерванты, солюбилизаторы и/или другие материалы, подходящие для включения в фармацевтическую композицию.

25 Фармацевтически приемлемые носители включают любые и все подходящие растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические агенты, антиоксиданты и агенты, замедляющие всасывание, и аналогичное им, которые физиологически совместимы с соединением по настоящему изобретению.

30 Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые могут быть использованы в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, включают воду, физиологический раствор, фосфатно-солевой буфер, этанол, декстрозу, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и

аналогичное им), и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, кукурузное масло, арахисовое масло, хлопковое масло и кунжутное масло, коллоидные растворы карбоксиметилцеллюлозы, трагакантовую камедь и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат, и/или различные буферы. Другие носители хорошо известны в области фармацевтики.

Фармацевтически приемлемые носители включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. Применение таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ известно в области техники, к которой относится настоящее изобретение. За исключением случаев, когда любая традиционная среда или агент несовместимы с активным соединением, предполагается их использование в фармацевтических композициях настоящего изобретения.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также могут содержать фармацевтически приемлемые антиоксиданты, например (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и аналогичное им; (2) жирорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и аналогичное им; и (3) агенты, хелатирующие металлы, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и аналогичное им.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также могут содержать агенты, повышающие изотоничность, такие как сахара, многоатомные спирты, такие как маннит, сорбит, глицерин, или хлорид натрия в композициях.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также могут содержать один или несколько адъювантов, подходящих для выбранного пути введения, таких как консерванты, смачивающие агенты, эмульгаторы, диспергирующие агенты, консерванты или буферы, которые могут увеличить срок хранения или эффективность композиции. Комбинация соединений по настоящему изобретению может быть получена с носителями, которые будут защищать соединение от быстрого высвобождения, такими как составы с

контролируемым высвобождением, включая имплантаты, трансдермальные пластыри и микрокапсулированные системы доставки. Такие носители могут включать желатин, глицерилмоностеарат, глицерилдистеарат, биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевую кислоту, коллаген, сложные полиортоэфиры и полимолочную кислоту как таковую или с воском, или другие материалы, хорошо известные в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Способы получения таких составов, как правило, известны специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение, смотрите, например, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения связывающий агент по настоящему изобретению может быть составлен для обеспечения надлежащего распределения *in vivo*. Фармацевтически приемлемые носители для парентерального введения включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. Применение таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ известно в области техники, к которой относится настоящее изобретение. За исключением случаев, когда любая обычная среда или агент несовместимы с активным соединением, предполагается их использование в композициях по настоящему изобретению. Другие активные или терапевтические соединения также могут быть включены в композиции.

Фармацевтические композиции для инъекций, как правило, должны быть стерильными и стабильными в условиях производства и хранения. Композиция может быть создана в виде раствора, микроэмульсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для лекарственного средства в высоких концентрациях. Носитель может представлять водный или неводный растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и аналогичное им) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и сложные органические эфиры для инъекций, такие как этилолеат. Надлежащая текучесть может быть поддержана, например, использованием покрытия, такого как лецитин, поддержанием требуемого

размера частиц в случае дисперсии и использованием поверхностно-активных веществ. Во многих случаях предпочтительно включать в композиции изотонические агенты, например, сахара, многоатомные спирты, такие как глицерин, маннит, сорбит, или хлорид натрия. Пролонгированное всасывание инъекционных композиций может быть осуществлено включением в композиции агента, замедляющего всасывание, например моностеаратных солей и желатина. Стерильные растворы для инъекций могут быть получены включением активного соединения в необходимом количестве в подходящий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, например, указанных выше, при необходимости, с последующей стерилизующей микрофльтрацией. Как правило, дисперсии получают включением активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты, например, таковые, указанные выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных растворов для инъекций примерами методов получения являются вакуумная сушка и сублимационная сушка (лиофилизация), которые позволяют получить порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его предварительно стерильно отфильтрованного раствора.

Стерильные растворы для инъекций могут быть получены введением активных соединений в необходимом количестве в подходящий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, указанных выше, при необходимости, с последующей стерилизующей микрофльтрацией. Как правило, дисперсии получают включением активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из таковых, указанных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных растворов для инъекций примерами методов получения являются вакуумная сушка и сублимационная сушка (лиофилизация), которые позволяют получить порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его предварительно стерильно отфильтрованного раствора.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения, композиция по настоящему изобретению содержит около $5,5 \times 10^{-7}$ моль или около 80 мг указанного связывающего агента, такое как $5,5 \times 10^{-7}$ моль или 80 мг.

В по существу предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения композиция по настоящему изобретению содержит около $6,8 \times 10^{-7}$ моль или около 100 мг указанного связывающего агента, такое как $6,8 \times 10^{-7}$ моль или 100 мг указанного связывающего агента.

5 В композиции по настоящему изобретению связывающий агент может представлять таковой, указанный выше; например, связывающий агент может содержать любую из указанных выше переменных областей и константных областей.

10 В композиции по настоящему изобретению таксановый химиотерапевтический агент предпочтительно представляет таковой, указанный выше. Настоящее изобретение дополнительно включает дозированную лекарственную форму связывающего агента или композицию, как указано выше.

15 Предпочтительно дозированная лекарственная форма предназначена для системного введения. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения дозированная лекарственная форма предназначена для инъекции или инфузии, такой как внутривенная инъекция или инфузия субъекту.

20 В композиции или дозированной лекарственной форме связывающий агент предпочтительно находится в форме водного раствора, такого как 0,9% NaCl (солевой раствор). Дозированная лекарственная форма может иметь объем 50-500 мл, такой как 50-250 мл, 50-500 мл, 100-500 мл или 100-250 мл.

25 В другом аспекте настоящая заявка на патент относится к связывающему агенту, содержащему первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1, для применения при лечении рака или для применения для снижения или профилактики прогрессирования опухоли, где связывающий агент используют в комбинации с таксановым химиотерапевтическим агентом.

30 Связывающий агент для применения по настоящему изобретению предпочтительно представляет указанный выше связывающий агент; например, связывающий агент может содержать любую из указанных выше переменных областей и константных областей.

Что касается связывающего агента для применения по настоящему изобретению, то таксановый химиотерапевтический агент может представлять указанный выше. В по существу предпочтительных вариантах осуществления

настоящего изобретения таксановый химиотерапевтический агент представляет доцетаксел.

Связывающий агент и таксановый химиотерапевтический агент могут присутствовать в композиции, как указано выше.

5 Настоящее изобретение дополнительно относится к таксановому химиотерапевтическому агенту для применения при лечении рака или для применения для снижения или профилактики прогрессирующей опухоли, где таксановый химиотерапевтический агент используют в комбинации со связывающим агентом, содержащим первую связывающую область, 10 связывающуюся с человеческим CD137, и вторая связывающая область, связывающаяся с человеческим PD-L1.

Связывающий агент может представлять таковой, указанный выше; например, связывающий агент может содержать любую из указанных выше переменной области и константной области.

15 Таксановый химиотерапевтический агент может представлять таковой, указанный выше. В по существу предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения таксановый химиотерапевтический препарат представляет доцетаксел.

Связывающий агент и таксановый химиотерапевтический агент могут 20 присутствовать/находиться в указанной выше композиции.

Наконец, настоящее изобретение относится к связывающему агенту, содержащему первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1, для получения лекарственного средства для лечения рака или для уменьшения 25 или профилактики прогрессирующей опухоли, где лекарственное средство предназначено для применения в комбинации с таксановым химиотерапевтическим агентом.

Связывающий агент может представлять таковой, указанный выше; например, связывающий агент может содержать любую из указанных выше 30 переменной области и константной области.

Таксановый химиотерапевтический агент может представлять таковой, указанный выше. В по существу предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения таксановый химиотерапевтический препарат представляет доцетаксел.

Связывающий агент и таксановый химиотерапевтический агент могут присутствовать композиции, как указано выше.

Дополнительные признаки настоящего изобретения включают:

1. Способ уменьшения или профилактики прогрессирующей опухоли или
5 лечения рака у субъекта, включающий обеспечение субъекта комбинированным лечением

I) связывающим агентом, содержащим первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1; и

10 II) таксановым химиотерапевтическим агентом.

2. Способ по п. 1, включающий введение связывающего агента и таксанового химиотерапевтического агента указанному субъекту по меньшей мере в одном курсе лечения.

3. Способ по любому из предшествующих пунктов, где первая
15 связывающая область связывается с человеческим CD137, имеющим последовательность, представленную в SEQ ID NO: 24, и/или вторая связывающая область связывается с человеческим PD-L1, имеющим последовательность, представленную в SEQ ID NO: 26.

4. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент
20 активирует человеческий CD137, когда связывается с ним, и ингибирует связывание человеческого PD-L1 с человеческим PD-1, когда связывается с PD-L1.

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, где
а) первая связывающая область содержит переменную область тяжелой
25 цепи (VH), содержащую последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 SEQ ID NO: 5;

и

б) вторая антиген-связывающая область содержит переменную область
30 тяжелой цепи (VH), содержащую последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 SEQ ID NO: 8, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 SEQ ID NO: 12.

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, где

а) первая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 2, 3 и 4, соответственно, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 6, 7, соответственно;

и

б) вторая антиген-связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 9, 10, 11, соответственно, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 13, 14, соответственно.

7. Способ по любому из предшествующих пунктов, где

а) первая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 5;

и

б) вторая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12.

8. Способ по любому из предшествующих пунктов, где

а) первая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, представленную

в SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5;

и

5 б) вторая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 12.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент представляет антитело, мультиспецифическое антитело, такое как
10 биспецифическое антитело.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент имеет формат полноразмерного антитела или фрагмента антитела.

11. Способ по любому из пп. 5-10, где каждая переменная область содержит три определяющие комплементарность области (CDR1, CDR2 и CDR3)
15 и четыре каркасные области (FR1, FR2, FR3, и FR4).

12. Способ по п. 11, где указанные определяющие комплементарность области и указанные каркасные области расположены от амино-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

13. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий

20 I) полипептид, содержащий, состоящий или по существу состоящий из указанной переменной области первой тяжелой цепи (VH) и константной области первой тяжелой цепи (CH), и

II) полипептид, содержащий, состоящий или по существу состоящий из указанной переменной области второй тяжелой цепи (VH) и константной
25 области второй тяжелой цепи (CH).

14. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий

I) полипептид, содержащий указанную переменную область первой легкой цепи (VL) и дополнительно содержащий константную область первой легкой цепи (CL), и

30 II) полипептид, содержащий указанную переменную область второй легкой цепи (VL) и дополнительно содержащий константную область второй легкой цепи (CL).

15. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент представляет антитело, содержащее первое связывающее плечо и второе связывающее плечо, где

первое связывающее плечо содержит:

5 I) полипептид, содержащий указанную переменную область первой тяжелой цепи (VH) и указанную константную область первой тяжелой цепи (CH), и

II) полипептид, содержащий указанную переменную область первой легкой цепи (VL) и указанную константную область первой легкой цепи (CL);

10 и второе связывающее плечо содержит:

I) полипептид, содержащий указанную переменную область второй тяжелой цепи (VH) и указанную константную область второй тяжелой цепи (CH), и

15 II) полипептид, содержащий указанную переменную область второй легкой цепи (VL) и указанную константную область второй легкой цепи (CL).

16. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий:

I) первую тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую указанную антиген-связывающую область, способную связываться с CD137, и

20 II) вторую тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую указанную антиген-связывающую область, способную связываться с PD-L1,

17. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент содержит:

25 I) первую тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую указанную антиген-связывающую область, способную связываться с CD137, первая тяжелая цепь содержит константную область первой тяжелой цепи, и первая легкая цепь содержит константную область первой легкой цепи; и

30 II) вторую тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую указанную антиген-связывающую область, способную связываться с PD-L1, вторая тяжелая цепь содержит константную область второй тяжелой цепи, и вторая легкая цепь содержит константную область второй легкой цепи.

18. Способ по любому из пп. 13-17, где каждая из константных областей первой и второй тяжелых цепей (CH) содержит одну или более константную область (CH1) 1 тяжелой цепи, шарнирную область, константную область (CH2)

2 тяжелой цепи и константную область (СН3) 3 тяжелой цепи, предпочтительно по меньшей мере шарнирную область, СН2 область и СН3 область.

19. Способ по любому из пп. 13-18, где каждая из константных областей первой и второй тяжелых цепей (СН) содержит СН3 область, и где две СН3 области включают асимметричные мутации.

20. Способ по любому из пп. 13-19, где в указанной константной области первой тяжелой цепи (СН) по меньшей одна из аминокислот в положении, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из: Т366, L368, К370, D399, F405, Y407 и К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU замещена, и в указанной константной области второй тяжелой цепи (СН) по меньшей одна из аминокислот в положении, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из: Т366, L368, К370, D399, F405, Y407 и К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU замещена, и где указанная первая и указанная вторая тяжелые цепи не замещены в одних и тех же положениях

21. Способ по п. 20, где (i) аминокислота в положении, соответствующем F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, представляет L в указанной константной области первой тяжелой цепи (СН), и аминокислота в положении, соответствующем К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, представляет R в указанной константной области второй тяжелой цепи (СН), или (ii) аминокислота в положении, соответствующем К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, представляет R в указанной первой тяжелой цепи, и аминокислота в положении, соответствующем F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, представляет L в указанной второй тяжелой цепи.

22. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент индуцирует Fc-опосредованную эффекторную функцию в меньшей степени по сравнению с другим антителом, содержащим те же первую и вторую антиген-связывающие области и две константные области (СН) тяжелой цепи, содержащие шарнир человеческого IgG1, СН2 и СН3 области.

23. Способ по п. 22, где указанные константные области (СН) первой и второй тяжелой цепи модифицированы, таким образом, что антитело индуцирует Fc-опосредованную эффекторную функцию в меньшей степени по сравнению с

идентичным антителом, которое содержит не модифицированные константные области (СН) первой и второй тяжелых цепей.

24. Способ по п. 23, где каждая из указанных не модифицированных константных областей (СН) первой и второй тяжелых цепей содержит
5 аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 15.

25. Способ по любому из пп. 23-24, где указанную Fc-опосредованную эффекторную функцию можно определить измерением связывания связывающего агента с рецепторами Fc γ , связывания с C1q или индуцирования Fc-опосредованного перекрестного связывания рецепторов Fc γ .

10 26. Способ по п. 25, где указанную Fc-опосредованную эффекторную функцию измеряют связыванием с C1q.

27. Способ по любому из пп. 22-26, где указанные константные области первой и второй тяжелой цепи модифицированы, таким образом, что связывание C1q с указанным антителом будет снижено по сравнению с антителом дикого
15 типа, предпочтительно снижено по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97% или на 100%, где связывание с C1q определяют при использовании ELISA.

28. Способ по любому из предшествующих пунктов, где по меньшей мере в одной из указанных константных областей (СН) первой и второй тяжелых цепей,
20 одна или более из аминокислот находится в положениях, соответствующих положениям L234, L235, D265, N297 и P331 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, не являются L, L, D, N и P, соответственно.

29. Способ по п. 28, где положения, соответствующие положениям L234 и L235 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU,
25 представляют F и E, соответственно, в указанных первой и второй тяжелых цепях.

30. Способ по п. 28 или 29, где положения, соответствующие положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU, представляют F, E и A, соответственно, в указанных
30 константных областях (СН) первой и второй тяжелых цепей.

31. Способ по любому из пп. 28-30, где положения, соответствующие положениям L234 и L235 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU константных областей обеих первой и второй тяжелых цепей, представляют F и E, соответственно, и где (i) положение, соответствующие F405

в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU константной области первой тяжелой цепи, представляет L, и положение, соответствующие K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU второй тяжелой цепи, представляет R, или (ii) положение, соответствующие K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU константной области первой тяжелой цепи, представляет R, и положение, соответствующие F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU второй тяжелой цепи, представляет L.

32. Способ по любому из пп. 28-31, где положения, соответствующие положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU константных областей обеих первой и второй тяжелых цепей, представляют F, E и A, соответственно, и где (i) положение, соответствующие F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU константной области первой тяжелой цепи, представляет L, и положение, соответствующие K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU константной области второй тяжелой цепи, представляет R, или (ii) положение, соответствующие K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU первой тяжелой цепи представляет R, и положение, соответствующие F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 в соответствии с нумерацией EU второй тяжелой цепи, представляет L.

33. Способ по любому из пп. 13-32, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

- а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 15 [IgG1-FC],
- б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и
- в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально

1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

34. Способ по любому из пп. 13-33, где константная область указанной первой или второй тяжелой цепи, такой как вторая тяжелая цепь, содержит или
5 состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 16 [IgG1-F405L],

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как
подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10
10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и

в) последовательности, имеющей максимально 9 замен, такой как имеющей
максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4,
максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с
15 аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

35. Способ по любому из пп. 13-34, где константная область указанной первой или второй тяжелой цепи, такой как первая тяжелая цепь, содержит или
состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности,
выбранной из группы, состоящей из:

20 а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 17 [IgG1-F409R]

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как
подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10
последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца
последовательности, как определено в а); и

25 в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как
имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6,
максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или
максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью,
определенной в а) или б).

30 36. Способ по любому из пп. 13-35, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи содержит или состоит, или по существу
состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы,
состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 18 [IgG1-Fc_FEA],

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и

5 в) последовательности, имеющей максимально 7 замен, такой как имеющей максимально 6 замен, максимально 5, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

10 37. Способ по любому из пп. 13-36, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи, такой как вторая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 20 [IgG1-Fc_FEAL],

15 б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и

20 в) последовательности, имеющей максимально 6 замен, такой как имеющей максимально 5 замен, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

25 38. Способ по любому из пп. 13-37, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи, такой как первая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 19 [IgG1-Fc_FEAR]

30 б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и

в) последовательности, имеющей максимально 6 замен, такой как имеющей максимально 5 замен, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

39. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент содержит константную область каппа (κ) легкой цепи.

40. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент содержит константную область лямбда (λ) легкой цепи.

5 41. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная константная область первой легкой цепи представляет константную область каппа (κ) легкой цепи.

10 42. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная константная область второй легкой цепи представляет константную область лямбда (λ) легкой цепи.

43. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная константная область первой легкой цепи представляет константную область лямбда (λ) легкой цепи.

15 44. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная константная область второй легкой цепи представляет константную область каппа (κ) легкой цепи.

45. Способ по любому из пп. 39-44, где каппа (κ) легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

- 20 а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 21,
б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и
25 в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену, по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

30 46. Способ по любому из пп. 40-45, где лямбда (λ) легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

- а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 22,
б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10

последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, определенной в а); и

5 в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену, по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

10 47. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент представляет изотип, выбранный из группы, состоящей из: IgG1, IgG2, IgG3, и IgG4.

48. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент представляет полноразмерное IgG1 антитело.

49. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело представляет IgG1m(f) аллотипа.

15 50. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело представляет акасунлимаб или его биоаналог.

51. Способ по любому из предшествующих пунктов, где таксан выбирают из группы, состоящей из: доцетаксела, паклитаксела, кабазитаксела и тезетаксела.

20 52. Способ по любому из предшествующих пунктов, где таксановый химиотерапевтический препарат представляет доцетаксел.

53. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество связывающего агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет:

25 а) около 0,3-15 мг/кг массы тела или в целом около 25-1200 мг; и/или

б) около $2,1 \times 10^{-9} - 1,2 \times 10^{-7}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times 10^{-7} - 8,1 \times 10^{-6}$ моль.

54. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество связывающего агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет:

30 а) около 0,3-10 мг/кг массы тела или в целом около 25-800 мг; и/или

б) около $2,1 \times 10^{-9} - 6,8 \times 10^{-8}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times 10^{-7} - 5,4 \times 10^{-6}$ моль.

55. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество связывающего агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения составляет:

а) около 0,3-5 мг/кг массы тела или в целом около 25-400 мг; и/или

5 б) около $2,1 \times 10^{-9} - 3,4 \times 10^{-8}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times 10^{-7} - 2,7 \times 10^{-6}$ моль.

56. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество связывающего агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет:

10 а) около 1,25 мг/кг массы тела или в целом около 100 мг; и/или

б) около $8,5 \times 10^{-9}$ моль/кг массы тела или в целом около $6,8 \times 10^{-7}$ моль.

57. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество таксанового химиотерапевтического агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения составляет около 10-200 мг/м², такое как 20-40 мг/м², 30-15 50 мг/м², 40-100 мг/м², 50-100 мг/м², 50-80 мг/м², 50-70 мг/м², 50-60 мг/м², 50-110 мг/м², 60-100 мг/м², 60-100 мг/м², 60-90 мг/м², 70-80 мг/м², 80-200 мг/м², 90-180 мг/м², 90-110 мг/м², 100-175 мг/м², или такое как около 170-180 мг/м².

58. Способ по любому из предшествующих пунктов, где таксановый химиотерапевтический агент представляет доцетаксел и количество, вводимое в 20 каждой дозе и/или в каждом курсе лечения составляет около 50-60 мг/м², такое как около 55 мг/м².

59. Способ по любому из предшествующих пунктов, где таксановый химиотерапевтический агент представляет доцетаксел и количество, вводимое в 25 каждой дозе и/или в каждом курсе лечения составляет около 70-80 мг/м², такое как около 75 мг/м².

60. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент и/или таксановый химиотерапевтический агент вводят системно.

61. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент и/или таксановый химиотерапевтический агент вводят внутривенной 30 инъекцией или инфузией.

62. Способ по любому из предшествующих пунктов, где по меньшей мере одну дозу указанного связывающего агента и по меньшей мере одну дозу

указанного таксанового химиотерапевтического препарата вводят в каждом курсе лечения.

63. Способ по любому из предшествующих пунктов, где каждый курс лечения составляет три недели (21 день).

5 64. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент и указанный таксановый химиотерапевтический агент вводят в один и тот же день.

10 65. Способ по любому из предшествующих пунктов, где каждую дозу указанного связывающего агента вливают в течение минимум 30 минут, например, в течение минимум 60 минут, минимум 90 минут, минимум 120 минут или минимум 240 минут.

15 66. Способ по любому из предшествующих пунктов, где введение связывающего агента предшествует введению таксанового химиотерапевтического агента по меньшей мере за 30 минут, например, по меньшей мере за 1 час или такое как по меньшей мере за 2 часа.

67. Способ по любому из предшествующих пунктов, где одну дозу указанного связывающего агента и/или одну дозу указанного таксанового химиотерапевтического агента вводят в 1 день каждого курса лечения.

20 68. Способ по любому из предшествующих пунктов, где одну дозу указанного связывающего агента вводят каждую третью неделю (1Q3W), например, в 1 день каждого трехнедельного курса лечения.

69. Способ по любому из предшествующих пунктов, где одну дозу указанного таксанового химиотерапевтического агента вводят каждую третью неделю (1Q3W), например, в 1 день каждого трехнедельного курса лечения.

25 70. Способ по любому из предшествующих пунктов, где каждой дозе таксанового химиотерапевтического агента предшествует премедикация стероидами, такая как премедикация пероральным кортикостероидом; например, введение около 8 мг дексаметазона 2 раза в день в течение 3 дней, начиная за 1 день до введения таксанового химиотерапевтического агента.

30 71. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект является человеком.

72. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет солидную опухоль.

73. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет выбранный из группы, состоящей из: меланомы, рака яичников, рака легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), колоректального рака, рака головы и шеи, рака желудка, рака молочной железы, рака почки, рака уротелия, рака мочевого пузыря, рака пищевода, рака поджелудочной железы, рака печени, тимомы и карциномы тимуса, рака головного мозга, глиомы, аденокарциномы, рака щитовидной железы, других видов рака кожи, саркомы, множественной миеломы, лейкемии, лимфомы, миелодиспластического синдрома, рака яичников, рака эндометрия, рака предстательной железы, рака полового члена, рака шейки матки, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, карциномы Меркеля и мезотелиомы.

74. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет выбранный из группы, состоящей из: рака легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), рака уротелия (рак мочевого пузыря, мочеочника, мочеиспускательного канала или почечной лоханки), рака эндометрия (EC), рака молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), плоскоклеточной карциномы головы и шеи (SCCHN) (например, рака полости рта, глотки или гортани) и рака шейки матки.

75. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак легкого.

76. Способ по п. 75, где рак легкого представляет немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), такой как плоскоклеточный или не плоскоклеточный NSCLC.

77. Способ по п. 76, где NSCLC не имеет сенсibiliзирующей мутации эпидермального фактора роста (EGFR) и/или транслокации киназы анапластической лимфомы (ALK)/перестройки ROS1.

78. Способ по любому из пп. 75-77, где субъект получал вплоть до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

79. Способ по п. 78, где субъект получал химиотерапию препаратами на основе платины.

80. Способ по п. 78, где субъект не соответствует установленным критериям для терапии препаратами на основе платины и получал

альтернативную химиотерапию, например, лечение по схеме, содержащей гемцитабин.

81. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

82. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект столкнулся с прогрессированием заболевания во время или после лечения ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

83. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект столкнулся с прогрессированием заболевания во время или после последнего предшествующего лечения ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

84. Способ по любому из пп. 78-83, где субъект столкнулся с прогрессированием заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

85. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

86. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак эндометрия.

87. Способ по п. 86, где у субъекта подтвержденный гистологическим исследованием рак эпителиального эндометрия включает эндометриоидную, серозную, плоскоклеточную, светлоклеточную карциному или карциносаркому.

88. Способ по п. 86 или 87, где субъект получал вплоть до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

89. Способ по любому из пп. 86-88, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

90. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак уротелия, включая рак мочевого пузыря, мочеточника, мочеиспускательного канала или почечной лоханки.

5 91. Способ по п. 90, где субъект получал вплоть до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

10 92. Способ по п. 90 или п. 91, где субъект получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

93. Способ по п. 90 или п. 91, где субъект получал химиотерапию препаратами на основе платины.

15 94. Способ по любому из пп. 90 или 91, где субъект не соответствует установленным критериям для терапии препаратами на основе платины и получал альтернативную химиотерапию, например, лечение по схеме, содержащей гемцитабин.

20 95. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак молочной железы, такой как трижды негативный рак молочной железы (TNBC).

25 96. Способ по п. 95, где TNBC представляет HER2 -отрицательный, такой, как определено при использовании флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) или определении экспрессии белка иммуногистохимией. PR (рецептор к прогестерону)-отрицательный, ER (рецептор к эстрагену) - отрицательный.

30 97. Способ по п. 95 или 76, где субъект получал по меньшей мере одну предшествующую схему системного лечения местно-прогрессирующего/метастатического заболевания, такую как по меньшей мере одна предшествующая схема системного лечения, включая схемы, включающие антрациклины, таксаны, антиметаболиты или ингибиторы микротрубочек.

98. Способ по п. 97, где субъект получал максимально 4 предшествующих схем системного лечения местно-прогрессирующего/метастатического заболевания для лечения указанного рака молочной железы, включая, по меньшей мере, одну предшествующую схему системного лечения, включающую антрациклин, таксан, антиметаболит или ингибитор микротрубочек.

99. Способ по любому из пп. 95-98, где субъект получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

5 100. Способ по п. 99, где субъект столкнулся с прогрессирующим заболеванием во время или после указанного предшествующего лечения ингибитором(ами) контрольных точек, такое как прогрессирующее заболевание, определенное рентгенографией.

10 101. Способ по любому из пп. 95-98, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

102. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак головы и шеи, такой как плоскоклеточная карцинома головы и шеи (SCCHN).

15 103. Способ по п. 102, где опухоль или рак представляет рецидивирующий или метастатический SCCHN.

104. Способ по п. 102 или 103, где опухоль или рак представляет рак полости рта, глотки или гортани.

20 105. Способ по любому из пп. 102-104, где субъект получал вплоть до четырех предшествующих схем системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания и имел прогрессирующее заболевание во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирующее заболевание, определенное рентгенографией.

25 106. Способ по п. 105, где субъект получал химиотерапию препаратами на основе платины.

107. Способ по п. 105, где субъект не соответствует установленным критериям для терапии препаратами на основе платины и получал альтернативную химиотерапию.

30 108. Способ по любому из пп. 102-107, где субъект получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, такой как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

109. Способ по п. 108, где субъект столкнулся с прогрессирующим заболеванием во время или после указанного предшествующего лечения

ингибитором(ами) контрольных точек, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

110. Способ по любому из пп. 102-107, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

111. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак шейки матки.

112. Способ по п. 111, где рак шейки матки гистологически является плоскоклеточной карциномой, аденокарциномой или аденоплоскоклеточной карциномой.

113. Способ по п. 111 или 112, где субъект получал по меньшей мере одну предшествующую схему системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания, такую как химиотерапия в комбинации с лечением, нацеленным на фактор роста эндотелия сосудов А, таким как лечение с помощью бевацизумаба, и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

114. Способ по п. 113, где субъект получал максимально 4 предшествующие схемы системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания, включая химиотерапию в комбинации с лечением, нацеленным на фактор роста эндотелия сосудов А, таким как лечение с помощью бевацизумаба.

115. Способ по любому из пп. 111-114, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

116. Композиция, содержащая таксановый химиотерапевтический агент и связывающий агент, содержащий первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1.

117. Композиция по п. 116, где количество связывающего агента в композиции составляет около 25-400 мг или $1,7 \times 10^{-7} - 2,7 \times 10^{-6}$ моль.

118. Композиция по п. 116, содержащая около 80 мг указанного связывающего агента.

119. Композиция по любому из пп. 116-118, где связывающий агент представляет таковой по любому из пп. 3-50.

120. Композиция по любому из пп. 116-119, где таксановый химиотерапевтический препарат представляет таковой по любому из пп. 51-52.

5 121. Композиция по любому из пп. 116-120, где композиции предназначена для системного введения.

122. Композиция по любому из пп. 116-121, где композиция предназначена для инъекции или инфузии, такой как внутривенная инъекция или инфузия.

10 123. Композиция по любому из пп. 116-122, где связывающий агент и таксановый химиотерапевтический препарат представляют водный раствор, такой как 0,9% NaCl (солевой раствор) в объеме 50-500 мл, таком как 100-250 мл.

15 124. Связывающий агент, содержащий первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1 для применения при лечении рака или для применения для снижения или профилактики прогрессирования опухоли, где связывающий агент используют в комбинации с таксановым химиотерапевтическим агентом.

20 125. Связывающий агент для применения по п. 124, где связывающий агент представляет таковой по любому из пп. 3-50.

126. Связывающий агент для применения по п. 124 или 125, где таксановый химиотерапевтический агент представляет таковой по любому из пп. 51-52.

25 127. Таксановый химиотерапевтический агент для применения при лечении рака или для применения для снижения или профилактики прогрессирования опухоли, где таксановый химиотерапевтический агент используют в комбинации со связывающим агентом, содержащим первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1.

30 128. Таксановый химиотерапевтический агент для применения по п. 127, где связывающий агент представляет таковой по любому из пп. 3-50.

129. Таксановый химиотерапевтический агент для применения по п. 127 или 128, где таксановый химиотерапевтический агент представляющий таковой по любому из пунктов.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Таблица 7

SEQ ID	НАЗВАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
1	VH_CD137-009-H7	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLN DY W MSWVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAASVKG RFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC <u>ARGGL</u> <u>TYGFDLWGQGLVTVSS</u>
2	VH_CD137-009-H7_CDR1	GFSLN DY W
3	VH_CD137-009-H7_CDR2	IDVGGSL
4	VH_CD137-009-H7_CDR3	ARGGLTYGFDL
5	VL_CD137-009-L2	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCQASEDISSYLAWY QQKPGKAPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTDYT FTISSLQPEDIATYYCHYYATISGLGVAFGGGTKVEIK
6	VL_CD137-009-L2_CDR1	EDISSY
	VL_CD137-009-L2_CDR2	GAS
7	VL_CD137-009-L2_CDR3	HYYATISGLGVA
8	VH-PD-L1-547	EVQLLEPGGGLVQPGGSLRLSCEASGSTFSTYAMS WVRQAPGKGLEWVSGFSGSGGFTFYADSVRGRFT ISRDSSKNTLFLQMSSLRAEDTAVYYCAIPARGYNY <u>GSFQHWGQGLVTVSS</u>
9	VH-PD-L1-547-CDR1	GSTFSTYA
10	VH-PD-L1-547-CDR2	FSGSGGFT
11	VH-PD-L1-547-CDR3	AIPARGYNYGSFQH
12	VL-PD-L1-547	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWY QQKPGQAPVLVVYDDNDRPSGLPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDS SSDHVV FGGGTKLTVL
13	VL-PD-L1-547-CDR1	NIGSKS
	VL-PD-L1-547-CDR2	DDN
14	VL-PD-L1-547-CDR3	QVWDS SSDHVV
15	IgG1-Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
16	IgG1-Fc_F405L	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
17	IgG1-Fc_K409R	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYRLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	IgG1-Fc_FEA	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPC PAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSH

SEQ ID	НАЗВАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
		EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
19	IgG1-FEAR-Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEFE EG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVA VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	IgG1-FEAL-Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP APEFE EG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVA VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
21	Каппа-С	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLSSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
22	Лямбда-С	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYL TPEQWKS HR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
23	Human CD137 (UniProtKB - Q07011; включая сигнальную пептидную последовательность: aa 1-23)	MGNSCYNIVALLLVNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCD NNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRK ECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQEL TKKGCKDCCFGTFNDQKRIGICRPWTNCSLDGKSVLV NGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQ IISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL
24	Human CD137 (UniProtKB - Q07011; зрелая последовательность)	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQR TCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGA GCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRIGIC RPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGA SSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLR FSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF EEEEGGCEL
25	Human PD-L1 (UniProtKB - Q9NZQ7; включая сигнальную пептидную последовательность: aa 1-18)	MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNM TIECFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLK VQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGV YRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPVTS EHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKR EEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAEL VIPELPLAHPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRK GRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET
26	Human PD-L1 (UniProtKB - Q9NZQ7; зрелая последовательность)	FTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIV YWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRARLLKDQ LSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRIT VKVNAPYNKINQRILVVDPVTS EHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTT TNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPNERTH LVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDT NSKKQSDTHLEET

SEQ ID	НАЗВАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
27	Homo Sapiens EGFR	MRPSGTAGALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSN KLTQLGTFEDHFLSLQRMFNCEVVLGNLEITYVQRN YDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLLENLQIIRGNMY YENSYALAVLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHGAV RFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDFQNHG SCQKCDPSCPNGSCWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGR CRGKSPSDCCHNQCAAGCTGPRESCLVCRKFRDEA TCKDTCPLMLYNPTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKK CPRNYVVDHGSVCVACGADSYEMEEDGVRKCKKC EGPCRKVCNGIGIGEFKDSL SINATNIKHFKNCTSIG DLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFL IQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGFSLAVVSL NITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKLCYANTINWKKLFG TSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPE PRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPRFVENSECI QCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVK TCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGC TGPGLGCPNTGPKIPSIATGMV GALLLLL VVALGIGLF MRRRHIVRKRTRLRLLQERELVEPLTPSGEAPNQALL RILKETEFLKIKVLGSGAFGTVYKGLWIPEGEKVKIPV AIKELREATSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLG ICLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIGSQYLLN WCVQIAKGMNYLEDRLVHRDLAARNVLVKTPOHV KITDFGLAKLLGAEKEYHAEGKVPIKWMALESILH RIYTQSDVWSYGVTWELMTFGSKPYDGIPASEISSIL EKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDADSRPKFREL IEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLPSPTDSNFYRALM DEEDMDDVVD ADEYLIPQQGFFSSPSTSRTPLLSSLSA TSNNSTVACIDRNLQSCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTE DSIDDTFLPVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNP APSRDPHYQDPHSTAVGNPEYLNTVQPTCVNSTFDSP AHWAQKGS HQISLDNPDYQQDFFPKAKPNGIFKGS TAENA EYLRVAPQSSEFIGA
28	VH_CD137-009	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNDYWMSWVR QAPGKGLEWIGYIDVGGSLYYASWAKGRFTISRTSTT VDLKM TSLTTEDTATYFCARGGLTYGFDLWGPGLT VTVSS
29	VL_CD137-009	DIVMTQTPASVSEPVGGT VTINCQASEDISSYLAWYQ QKPGQRPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTEYALTI SDLESADAATY YCHYYATISGLGVAFGGGTEVVVK
30	m4-1BB-3H3 VH	EMQLVESGGGLVQPGRSMKLS CAGSGFTLSDYGVAV WVRQAPKGLEWVAYISYAGGTTYRESVKGRFTIS RDNAKSTLYLQMDSLRSED TATYYCTIDGYGGYSG SHWYFDFWGP GTMVTVSS
31	m4-1BB-3H3 VL	DIQMTQSPSLLSASV GDRVTLNCR TSNVYKNLAWY QQKLGEAPKLLIYNANSLQAGIPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDVATYFCQQYYSGNTFGAGTNLELK
32	MPDL3280A VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDSWIHWY RQAPGKGLEWYAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDY WGQGTLVTVSS
33	MPDL3280A VL	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDVSTAVAWYQ QKPGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIK
34	AALT	AKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPV TLTWN SGLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTW PSQSITCNVAHPASSTKVDK KIEPRGPTIKCPPCKCPA PNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPMVT CVVVDVSED DPDVQISWVFN NVEVLTAQTQTHREDYNSTLRV VSA

SEQ ID	НАЗВАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
		LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNNHTTKSFSRTPGK
35	ААКR	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPV TLTWNLSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTW PSQITCNVAHPASSTKVDKKEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPMVTCVVVDVSED DPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNNHTTKSFSRTPGK
36	Константная область каппа LC	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTLL TKDEYERHNSYTCETHKTSTSPIVKSFNREK

Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется следующими неограничивающими объем настоящего изобретения примерами.

ПРИМЕРЫ

5 Пример 1: Получение CD137 антитела

Антитела CD137-005 и CD137-009 получали, как описано в Примере 1 WO2016/110584. Кратко, кроликов иммунизировали смесью белков, содержащей слитый белок человеческого CD137-Fc. В-клетки из крови сортировали и подвергали скринингу на продукцию специфического антитела к CD137 при
10 использовании ELISA и проточной цитометрии. Из В-клеток, показавших положительный результат при скрининге, выделили РНК и провели секвенирование. Гены варибельной области тяжелой и легкой цепи синтезировали и клонировали в вектор экспрессии человеческого каппа IgG1, включая тяжелую цепь человеческого IgG1, содержащую следующие мутации
15 аминокислот: L234F, L235E, D265A и F405L (FEAL) или F405L (FEAL), где номер положения аминокислот соответствует нумерации EU (соответствует SEQ ID NO: 20). Варибельная область последовательности химерного антитела CD137 (CD137-009) приведена в перечне последовательностей в настоящем документе, как SEQ ID NO: 28 и SEQ ID NO: 29.

20 Пример 2: Гуманизация кроличьего (химерного) CD137 антитела

Были получены последовательности гуманизированного антитела из кроличьего анти-CD137-009 от Antitope (Cambridge, UK). Последовательности гуманизированного антитела получили при использовании технологии гуманизации зародышевой линией (прививка CDR). Гуманизированные V

области генов были сконструированы на основе последовательностей зародышевой линии человека с наиболее близкой гомологией с аминокислотными последовательностями VH и Vκ кроличьего антитела. Сконструировали серию из семи VH и трех Vκ (VL) зародышевых гуманизированных V-областей генов. Структурные модели нечеловеческого родительского антитела V областей были получены с использованием Swiss PDB и проанализированы с целью идентификации аминокислот в рамках считывания V области, которые могут быть важны для свойств связывания антитела. Эти аминокислоты были отмечены для включения в один или несколько вариантов антител с привитым CDR. Последовательности зародышевой линии, используемые в качестве основы для гуманизированных дизайнов, приведены в Таблице 8.

Таблица 8. Наиболее близко совпадающие последовательности V-сегмента и J-сегмента зародышевой линии человека

Антитело	Тяжелая цепь		Легкая цепь (κ)	
	Сегмент V области зародышевой линии человека	Сегмент J области зародышевой линии человека	Сегмент V области зародышевой линии человека	Сегмент J области зародышевой линии человека
Кроличье анти-CD137-009	hIGHV3-49*04	hIGHJ4	hIGKV1-33*01	IGKJ4

Затем был выбран вариант последовательности с наименьшим количеством потенциальных эпитопов Т-клеток с использованием запатентованных технологий *in silico* Antitope, iTope™ и TCED™ (База данных эпитопов Т-клеток) (Perry, L.C.A, Jones, T.D. and Baker, M.P. New Approaches to Prediction of Immune Responses to Therapeutic Proteins during Preclinical Development (2008). Drugs in R&D 9 (6): 385-396; 20 Bryson, C.J., Jones, T.D. and Baker, M.P. Prediction of Immunogenicity of Therapeutic Proteins (2010). Biodrugs 24 (1):1-8). Наконец, варианты сконструированных нуклеотидных последовательностей оптимизировали по кодонам.

Последовательности вариабельной области гуманизированного антитела CD137 (CD137-009-HC7LC2) приведены в перечне последовательностей в настоящем документе, как SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 5.

Пример 3: Получение антитела PD-L1

Иммунизацию и создание гибридомы проводили при использовании Aldevron GmbH (Freiburg, Germany). кДНК, кодирующая аминокислоты 19-238 PD-L1 человека, была клонирована в запатентованные экспрессионные плазмиды Aldevron. Антитело PD-L1-547 получили иммунизацией животных 5 OmniRat (трансгенные крысы, экспрессирующие диверсифицированный репертуар антител с полностью человеческими идиотипами); Ligand Pharmaceuticals Inc., San Diego, USA) внутрикожным введением золотых частиц, покрытых кДНК PD-L1 человека, с использованием ручного устройства для бомбардировки частицами («генная пушка»). Образцы сыворотки собирали 10 после серии иммунизаций и тестировали с использованием проточной цитометрии на клетках НЕК, временно трансфицированных выше указанными экспрессионными плазмидами для экспрессии PD-L1 человека. Клетки, продуцирующие антитела, выделяли и сливали с клетками мышины миеомы (Ag8) в соответствии со стандартными процедурами. РНК из гибридом, 15 продуцирующим специфическое антитело к PD-L1, экстрагировали и проводили секвенирование. Был синтезирован ген вариабельных областей тяжелой и легкой цепи (SEQ ID NO: 8 и 12), который клонировали в вектор экспрессии лямбда IgG1 человека, содержащий тяжелую цепь IgG1 человека, содержащую следующие аминокислотные мутации: L234F, L235E, D265A и K409R (FEAR), 20 где номер положения аминокислот приведен в соответствии с нумерацией EU (соответствует SEQ ID NO: 19).

Пример 4: Получение биспецифических антител при использовании 2-МЕА-индуцированного обмена Fab-плечами

Биспецифические антитела IgG1 получили обменом Fab-плечами в 25 условиях контролируемого восстановления. Этот метод основывается на использовании комплементарных доменов СН3, которые способствуют образованию гетеродимеров в специфических условиях анализа, как описано в WO 2011/131746. Мутации F405L и K409R (нумерация ЕС) были введены в соответствующие антитела для создания пар антител с комплементарными 30 доменами СН3.

Для получения биспецифических антител два исходных комплементарных антитела, каждое антитело в конечной концентрации 0,5 мг/мл, инкубировали с 75 мМ 2-меркаптоэтиламина-HCl (2-МЕА) в общем объеме 100 μ л PBS при температуре 31 °C в течение 5 часов. Реакцию восстановления останавливали

удалением восстанавливающего агента 2-МЭА при использовании спин-колонок (центробежные фильтры Microcon, 30k, Millipore) согласно протоколу производителя.

Биспецифические антитела были получены объединением следующих антител из Примеров 1 и 3

- Антитело CD137-009-FEAL в сочетании с антителом PD-L1-547-FEAR

- Антитело PD-L1-547-FEAL в сочетании с антителом CD137-009-FEAR

- Антитело GEN1046 (PD-L1-547-FEAL в сочетании с антителом CD137-009-NC7LC2-FEAR (CD137 связывающее плечо: SEQ ID NO: 1, 5, 21, 19; PD-L1 связывающее плечо: SEQ ID NO: 8, 12, 22, 20),

- Антитело b12-FEAL в сочетании с антителом PD-L1-547-FEAR, с антителом CD137-009-FEAR или с антителом CD137-009-NC7LC2-FEAR, используя в качестве первого плеча антитело b12, которое представляет gp120-специфическое антитело (Barbas, CF. J Mol Biol. 1993 Apr 5;230(3):812-23)

- PD-L1-547-FEAL или CD137-009-FEAL с антителом b12-FEAR.

Пример 5: Фармакодинамическая оценка GEN1046 в периферической крови у пациентов с распространенными солидными опухолями.

Для исследования биологической активности GEN1046 при различных уровнях доз у пациентов с распространенными опухолями собирали образцы крови и сыворотки на исходном уровне и в различные моменты времени во время лечения. Основываясь на механизме действия GEN1046, предполагалось, что уровни доз с биологической активностью будут модулировать циркулирующие уровни интерферона- γ и индуцировать пролиферацию периферических Т-клеток CD8.

Для определения уровней интерферона- γ в сыворотке (IFN- γ) образцы сыворотки собирали у пациентов на исходном уровне и в различные моменты времени после введения GEN1046 в 1 курсе и 2 курсе (день 1 [2 часа и между 4-6 часами после введения], 2, 3, 8 и 15). Уровни IFN- γ в сыворотке измеряли при использовании мультиплексного иммунного анализа Meso Scale Discovery (MSD) (каталожный номер K15209G) в соответствии с инструкциями производителя.

Для измерения модуляции субпопуляций периферических иммунных клеток/иммуноцитов проводили иммунофенотипирование периферической крови в цельной крови, собранной в пробирки с EDTA, на исходном уровне и в различные моменты времени после введения GEN1046 в 1 курсе и 2 курсе (дни

2, 3, 8 и 15). 100 μ л цельной крови добавляли к моноклональным антителам, конъюгированным с флуорохромом, которые специфически связываются с антигенами клеточной поверхности.: CD45RA-FITC (клон LEU-18, BD Biosciences каталожный номер 335039), CCR7-BV510 (клон 3D12, BD Biosciences, каталожный номер 563449), CD8-PerCP-Cy5,5 (клон RPA- T8, BD Biosciences, каталожный номер 560662). После инкубации на льду окрашенные образцы обрабатывали лизирующим раствором FACS (BD Biosciences, каталожный номер 349202) для лизиса эритроцитов. Избыток антител и клеточный дебрис удаляли промыванием окрашивающим буфером (BD Biosciences, каталожный номер 554656). После лизиса/отмывки клетки фиксировали и повышали проницаемость путем инкубации в буферном пермеабидизирующем растворе 2 (BD Biosciences, каталожный номер 340973). Затем клетки промывали и ресуспендировали в окрашивающем буфере и инкубировали на льду с антителом к Ki67 (BV421 B56, BD Biosciences, каталожный номер 562899) для обнаружения пролиферирующих клеток. После инкубации избыток антител удаляли промыванием окрашивающим буфером. Клетки ресуспендировали в окрашивающем буфере и собирали данные с использованием проточного цитометра BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson) в течение 1 часа после окрашивания.

Введение GEN1046 пациентам с раком приводило к модуляции циркулирующих уровней IFN- γ и пролиферирующих эффекторных CD8 T-клеток памяти (Таблица 1). Уровни IFN- γ увеличились более чем в 2 раза в первом цикле лечения при всех исследованных уровнях доз. Максимальное увеличение было обнаружено при дозах 50 мг, 80 мг и большинство пациентов в когорте 80 мг (75%) имели кратное увеличение >2 (Таблица 1). GEN1046 также вызывал пролиферацию эффекторных CD8+T-клеток памяти, что измерялось увеличением частоты Ki67+ CD8+ CD45RA-CCR7-T-клеток. По сравнению с изменениями, наблюдаемыми при модуляции циркулирующих уровней IFN- γ , максимальная и более последовательная модуляция пролиферирующих CD8+ эффекторных T-клеток памяти наблюдалась у пациентов в когорте 80 мг. В частности, в когорте 400 мг величина изменений уровней циркулирующего IFN- γ и пролиферирующих эффекторных CD8 T-клеток памяти была ниже по сравнению с когортами 25-200 мг. Эти результаты показали, что GEN1046 вызывает иммунный ответ, характеризующийся модуляцией иммунных

эффекторных клеток и растворимых факторов, критических для генерирования противоопухолевых иммунных ответов, ответами большей величины на уровне дозы 80 мг.

5 Таблица 9. GEN1046 модуляция периферических фармакодинамических конечных точек у пациентов с раком: пиковое кратное изменение по сравнению с исходным уровнем во время 1 курса в зависимости от уровня дозы^a

	GEN1046 25 мг	GEN1046 50 мг	GEN1046 80 мг	GEN1046 200 мг	GEN1046 400 мг
Интерферон- γ ^b					
n	4	4	8	8	6
Min	1,17	1,06	1,45	1,47	1,18
Q1	2,05	1,89	2,82	2,35	1,32
Медиана	3,90	4,63	4,49	3,48	2,56
Q3	9,99	6,90	5,94	4,89	3,37
Max	15,11	7,27	12,17	5,20	102,08
Пролиферирующие эффекторные CD8 Т-клетки ^c памяти					
n	3	2	8	8	7
Min	2,00	2,00	1,00	0,67	1,00
Q1	2,00	2,00	2,00	1,40	1,06
Медиана	2,00	2,50	3,42	2,83	1,50
Q3	3,50	3,00	9,75	5,25	2,00
Max	5,00	3,00	31,40	6,67	7,00

Первичные данные на 27 января 2020 года.

10 n: количество пациентов на когорту по величине дозы; Min: наименьшее измеренное значение; Q1: 25-й перцентиль; Q3: 75-й перцентиль; Max: максимальное измеренное значение.

15 ^a Фармакодинамические оценки, включая изменения циркулирующих уровней интерферона-гамма и эффекторных Т-клеток, проводились с использованием образцов крови пациентов с распространенной солидной опухолью, включенных в фазу увеличения дозы открытого многоцентрового исследования безопасности GEN1046 (NCT03917381).

20 ^b Уровни циркулирующего гамма-интерферона измеряли в образцах сыворотки на исходном уровне и в различные моменты времени после введения GEN1046 в 1 курсе и 2 курсе (день 1 [2 часа и между 4-6 часами после введения], 2, 3, 8, и 15). Уровни гамма-интерферона в образцах сыворотки определяли при

использовании мультиплексного иммунного анализа Meso Scale Discovery (MSD).

5 ^c Иммунофенотипирование периферической крови проводили в цельной крови, собранной на исходном уровне и в различные моменты времени после введения GEN1046 в 1 курсе и 2 курсе (дни 2, 3, 8 и 15). Частоту пролиферирующих (Ki67+) эффекторных CD8Т-клеток памяти (CD8+CD45RA-CCR7-Т-клетки) оценивали в образцах цельной крови при использовании проточной цитометрии.

Пример 6: Первичные данные повышения дозы

10 Дизайн исследования:

Клиническое исследование GCT1046-01 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03917381) было разработано, как исследование, состоящее из двух фаз, включая фазу текущего повышения дозы и фазу расширения когорты, получающей выбранную дозу препарата.

15 Исследование было разработано, как открытое многоцентровое исследование безопасности I/IIa фазы GEN1046 (DuoBody®-PD-L1x4-1BB). Исследование состоит из 2 фаз; впервые проводимое с участием людей (ФИН) повышение дозы (Фаза I) и расширение когорты, получающей выбранную дозу препарата (Фаза IIa). На Фигуре 2 показано схематическое изображение дизайна клинического исследования.

20 Повышение дозы

Повышение дозы было разработано для оценки GEN1046 у субъектов с солидными злокачественными опухолями для определения максимально переносимой дозы (MTD) или максимальной вводимой дозы (MAD) и/или рекомендуемой дозы фазы 2 (RP2D).

Для повышения дозы субъект должен быть мужчиной или женщиной в возрасте ≥ 18 лет и иметь измеряемое проявление заболевания в соответствии с RECIST 1.1.

30 Субъекты должны иметь гистологически или цитологически подтвержденную солидную опухоль, не относящуюся к CNS, которая была метастатической или неоперабельной, и для которых не было доступной стандартной терапии, которая могла бы принести клиническую пользу, или субъекты, которые не являются кандидатами на такую доступную терапию, и

для которых, по мнению исследователя, экспериментальная терапия GEN1046 может быть полезной.

5 При повышении дозы субъекты получали одну инфузию GEN1046 каждую третью неделю (1Q3W) до момента достижения определенных в протоколе критериев прекращения лечения; например, рентгенографическое прогрессирующее заболевание или клиническое прогрессирующее. GEN1046 вводили внутривенной инфузией в течение минимум 60 минут в 1-й день каждого 3-недельного курса лечения (21 день). Концепция дизайна исследования показана на Фигуре 2.

10 Исследование дозы 1Q3W было разработано для потенциальной (в зависимости от данных, собранных в ходе исследования) оценки GEN1046 при 7 основных фиксированных дозах: 25, 80, 200, 400, 800, 1200 и 1600 мг, а также 6 дополнительных промежуточных фиксированных дозах 50, 140, 300, 600, 1000 и 1400 мг.

15 Рекомендованная доза фазы 2 (RP2D) основывалась на обзоре доступной информации о безопасности и дозировках и могла быть ниже максимально переносимой дозы (MTD).

Расширение

20 Целью расширения является предоставление дополнительных данных о безопасности, переносимости, MoA, фармакокинетике (PK) и противоопухолевой активности выбранной дозы/схемы.

Расширение было разработано для набора 6 типов опухолей (7 параллельных когорт), то есть, NSCLC, EC, UC, TNBC, SCCHN и рак шейки матки. Основываясь на первичных сигналах эффективности, получаемых при 25 повышении дозы, могут быть открыты дополнительные когорты с другими типами опухолей. Спонсор определяет приоритет открытия расширенных когорт с конкретным заболеванием, исходя из данных, полученных при повышении дозы.

Расширенные когорты NSCLC

30 Расширенные когорты NSCLC должны включать субъектов с плоскоклеточной гистологией, а также субъектов с неплоскоклеточной гистологией.

Поскольку частота ответов и другие исходы, связанные с заболеванием, могут различаться в популяции, ранее не получавшей PD-1/PD-L1, по сравнению

с популяцией, ранее получавшей PD-1/L1, пациенты с NSCLC были разделены на разные когорты, чтобы обеспечить достаточные доказательства первичной эффективности. Когорта 2 нацелена на изучение первичной эффективности у пациентов с NSCLC, ранее не получавших PD-1/L1, где SOC с ингибиторами PD-1/L1 ограничен или недоступен. Если первичные клинические данные свидетельствуют о значительном улучшении по сравнению с доступными методами лечения в популяции с высокими неудовлетворенными медицинскими потребностями (например, низкий или отрицательный PD-L1), как это определено DMC в обзоре совокупности данных, спонсор может запросить открытие когорты 2 в местах, где доступ к ингибиторам PD-1/L1 не ограничен.

Расширенная когорта UC

Когорта UC была разработана таким образом, чтобы включать как субъектов, которые соответствуют установленным критериям для получения химиотерапии препаратами на основе платины, так и субъектов, которые не соответствуют установленным критериям для получения химиотерапии препаратами на основе платины.

Расширенные когорты SCCHN и TNBC

Когорты SCCHN и TNBC могут включать как субъектов, ранее получавших предшествующее лечение ингибитором PD-1/PD-L1, так и субъектов, ранее не получавших лечение ингибитором PD-1/L1.

Критерии включения в исследование

Субъекты соответствуют установленным критериям для включения в исследования, только если они отвечают всем следующим критериям:

Субъект должен быть мужчиной или женщиной ≥ 18 лет и иметь измеряемое проявление заболевания в соответствии с RECIST 1.1.

Субъекты должны иметь гистологически или цитологически подтвержденный диагноз рецидивирующего или рефрактерного, прогрессирующего и/или метастатического NSCLC, EC, UC, TNBC, SCCHN или рака шейки матки, которые больше не являются кандидатами на стандартную терапию или отказываются от нее (если субъекты имели доступ и соответствовали установленным критериям для соответствующего лечения), и у которых не проводилось противораковое лечение, как указано ниже:

Расширенная когорта 1 (NSCLC): получавшая предшествующее лечение PD-1/L1

Субъекты NSCLC, получившие до 4 предшествующих схем системного лечения (адъювантное и поддерживающее лечение считается частью одной линии лечения) прогрессирующего/метастатического заболевания с рентгенографическим прогрессированием заболевания во время или после последнего предшествующего лечения.

Могут быть включены субъекты NSCLC с любой гистологией. Субъекты с диагнозом неплоскоклеточного NSCLC, установленном при проведении гистологических или цитологических исследований, не должны иметь сенсibiliзирующую мутацию эпидермального фактора роста (EGFR) и/или транслокацию киназы анапластической лимфомы (ALK)/перестройку ROS1. Сенсibiliзирующие мутации EGFR являются мутациями, поддающимися лечению при использовании одобренных ингибиторов тирозинкиназы (TKI). Документы о статусе EGFR и ALK должны быть доступны для локальной оценки. Если документы о статусе EGFR и ALK недоступны, для включения требуется одобрение медицинского наблюдателя от спонсора.

Субъекты должны были получить терапию на основе платины (или альтернативную химиотерапию из-за несоответствия установленным требованиям для получения химиотерапии на основе платины, например, по схеме, содержащей гемцитабин).

Субъекты должны были получить предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1 как таковым или в комбинации, и они должны были иметь рентгенографическое прогрессирование заболевания во время лечения. Одобрение спонсора требуется для субъектов с BOR SD или PD на схеме, содержащей CPI, с продолжительностью лечения вплоть до 16 недель.

Расширенная когорта 2 (NSCLC) – не получавшая лечение PD-1/L1

Субъекты NSCLC, получившие до 4 предшествующих схем системного лечения (поддерживающее лечение считается частью одной линии лечения) метастатического заболевания с рентгенографическим прогрессированием заболевания во время или после последнего предшествующего лечения.

Могут быть включены субъекты NSCLC с любой гистологией. Субъекты с диагнозом неплоскоклеточного NSCLC, установленным при проведении гистологических или цитологических исследований, не должны иметь сенсibiliзирующую мутацию эпидермального фактора роста (EGFR) и/или транслокацию киназы анапластической лимфомы (ALK)/перестройку ROS1.

Сенсибилизирующие мутации EGFR являются мутациями, поддающимися лечению при использовании одобренных ингибиторов тирозинкиназы (ТКИ). Документы о статусе EGFR и ALK должны быть доступны для локальной оценки. Если документы о статусе EGFR и ALK недоступны, для включения 5 требуется одобрение медицинского наблюдателя от спонсора.

Субъекты должны были получить терапию на основе платины (или альтернативную химиотерапию из-за несоответствия установленным требованиям для получения химиотерапии на основе платины, например, по 5 схеме, содержащей гемцитабин).

10 Субъекты не должны были получить предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1.

Расширенная когорта 3 (UC):

Субъекты UC (мочевого пузыря, мочеточника, мочеиспускательного канала или почечной лоханки), получившие до 4 предшествующих схем системного 15 лечения (адьювантное и поддерживающее лечение считается частью одной линии лечения) местнопрогрессирующего/метастатического заболевания с рентгенографическим прогрессированием заболевания во время или после последнего предшествующего лечения.

Субъекты должны были получить предшествующее лечение ингибитором 20 PD-1/L1 как таковым или в комбинации, и они должны иметь рентгенографическое прогрессирование заболевания во время лечения. Одобрение спонсора требуется для субъектов с BOR SD или PD на схеме, содержащей CPI, с продолжительностью лечения вплоть до 16 недель.

Локальные результаты последнего по времени теста PD-L1 должны быть 25 представлены до включения (если они доступны).

Когорта 3a: Субъекты, соответствующие установленным критериям для получения терапии препаратами на основе платины:

Субъекты должны получать химиотерапию препаратами на основе платины.

30 Когорта 3b: Субъекты, несоответствующие установленным критериям для получения терапии препаратами на основе платины:

Субъекты не должны соответствовать установленным критериям для любой химиотерапии препаратами на основе платины или любой химиотерапии, включающей цисплатин.

Расширенная когорта 4 (EC):

Субъекты ЕС получали до 4 предшествующих схем системного лечения (поддерживающее лечение считается частью одной линии лечения) прогрессирующего/метастатического заболевания с рентгенографическим прогрессирующим заболеванием во время или после последнего предшествующего лечения.

Субъекты должны иметь гистологию эпителиального эндометрия, включая эндометриоидную, серозную, плоскоклеточную, светлоклеточную карциному или карциносаркому. Саркомы и мезенхимальный ЕС исключены.

Субъекты не должны получать предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1 (установленный местный препарат/ доступ должен быть соблюден).

Расширенная когорта 5 (TNBC):

TNBC определяется как HER2-отрицательный [HER2 отрицательный по данным FISH] (отношение неамплифицированного HER2 к CEP17 < 2,0, среднее число копий гена HER2 для одного зонда < 4 сигналов/клетку) или, в качестве альтернативы, экспрессия белка HER2 по результатам ИHC равна 1 + отрицательный или ИHC 0 – отрицательный и отрицательный статус ER и PgR (определяется как < 1% клеток, экспрессирующих гормональные рецепторы с помощью анализа ИHC) в соответствии с локальной оценкой. Субъекты получали до 4 предшествующих схем системного лечения, включая, без ограничения, схемы, содержащие антрациклины, таксаны, антиметаболиты или ингибиторы микротрубочек (поддерживающее лечение считается частью одной линии лечения) местно-прогрессирующего/метастатического заболевания с рентгенографическим прогрессирующим заболеванием во время или после последнего предшествующего лечения.

Субъекты, у которых в анамнезе был рак молочной железы с другим фенотипом, должны иметь подтверждение TNBC на основе биопсии, полученной после последнего предшествующего системного лечения.

Когорта 5a – Субъекты, получавшие предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1:

Субъекты должны получать предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1 как таковым или в комбинации, и должны иметь рентгенографическое прогрессирующее заболевание во время лечения.

Когорта 5b – Субъекты, не получавшие предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1:

Субъекты не должны получать предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1.

Расширенная когорта 6 (SCCHN):

5 Субъекты с рецидивирующим или метастатическим SCCHN (ротовой полости, глотки, гортани) получали до 4 предшествующих схем системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания с радиографическим PD во время или после последнего предшествующего лечения (поддерживающее лечение считается частью одной линии лечения).

10 Субъекты должны иметь прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего лечения химиотерапией препаратами на основе платины (приемлема альтернативная комбинированная химиотерапия, если задокументирован статус непереносимости субъектом препаратов платины).

Когорта 6a – Субъекты, получавшие предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1:

15 Субъекты должны получать предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1 как таковым или в комбинации, и должны иметь рентгенографическое прогрессирование заболевания во время лечения. Одобрение спонсора требуется для субъектов с BOR SD или PD на схеме, содержащей CPI, с продолжительностью лечения вплоть до 16 недель.

20 Когорта 6b – Субъекты, не получавшие предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1:

Субъекты не должны получать предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1.

Расширенная когорта 7 (Рак шейки матки):

25 Субъекты с раком шейки матки получали до 4 предшествующих схем системного лечения, включая химиотерапию в комбинации с бевацизумабом (в соответствии с действующей маркировкой) за исключением случаев, когда субъект не соответствует установленным критериям для бевацизумаба в соответствии с местными стандартами (химиотерапия, проводимая в
30 адъювантных или неадъювантных условиях, или в сочетании с лучевой терапией, не должна рассматриваться как предшествующая линия терапии) рецидивирующего/метастатического заболевания с рентгенографическим прогрессированием заболевания во время или после последнего предшествующего лечения.

Субъект должен иметь рак шейки матки с подтвержденным гистологически диагнозом плоскоклеточная карцинома, аденокарцинома или аденоплоскоклеточная карцинома.

5 Субъекты не должны получать предшествующее лечение ингибитором PD-1/L1 (установленный местный препарат/ доступ должен быть соблюден).

Результаты

Повышение дозы

10 При повышении дозы были получены следующие первичные результаты. В Таблице 10 показан наилучший общий ответ (RECIST v1.1) по уровню дозы при включении в исследование и дозировании в общей сложности 30 пациентов (Дата извлечения данных: 03 февраля 2020 г.) .

15 В Таблицах 11 и 12 показана частота объективных ответов и подтвержденная частота объективных ответов, соответственно (RECIST v1.1) по уровню дозы при включении в исследование и дозировках в общей сложности 61 пациента (Прекращение сбора данных: 12 октября 2020 г.) .

20 Наилучшее процентное изменение размера опухоли от исходного уровня у всех пациентов показано на Фигуре 3. Контроль заболевания наблюдался у 40/61 (65,6%) пациентов в фазе повышения дозы. Частичный ответ (PR) был достигнут у четырех пациентов с тройным негативным раком молочной железы, раком яичников или немелкоклеточным раком легкого (NSCLC); 36 пациентов сохраняли стабильное заболевание.

25 Клиническая активность, наблюдаемая у пациентов NSCLC (наилучшее изменение размера опухоли по сравнению с исходным уровнем), показана на Фигуре 4 (Прекращение сбора данных: 12 октября 2020 года). Из шести пациентов NSCLC, каждый из которых ранее получал иммунотерапию контрольных точек, у двух был достигнут неподтвержденный PR, у двух – стабильное состояние заболевание, у двух - прогрессирование заболевания.

Таблица 10: Наилучший общий ответ (RECIST v1.1) по уровню дозы

	25 мг (n=2)	50 мг (n=5)	80 мг (n=8)	140 мг (n=1)	200 мг (n=8)	400 мг (n=6)	Total (n=30)
Полный ответ	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Частичный ответ	0 (0)	0 (0)	21 (25)	0 (0)	11 (12,5)	0 (0)	3 (10)
Стабильное заболевание	0 (0)	3 (60)	5 (62,5)	0 (0)	5 (62,5)	6 (100)	19 (63,3)
Прогрессирование заболевания	2 (100)	2 (40)	1 (12,5)	1 (100)	2 (25)	0 (0)	8 (26,6)
¹ uPR							

Таблица 11: Частота объективных ответов - повышение дозы

	Всего	25 мг	50 мг	80 мг	100 мг	140 мг	200 мг	400 мг	800 мг	1200 мг
N	61	4	5	9	6	6	9	9	9	4
Наилучший общий ответ										
CR (Полный ответ)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PR (Частичный ответ)	4 (6.6%)	0	0	2 (22,2%)	1 (16,7%)	0	1 (11,1%)	0	0	0
SD (Стабильное заболевание)	36 (59,0%)	1 (25,0%)	3 (60,0%)	6 (66,7%)	3 (50,0%)	3 (50,0%)	5 (55,6%)	7 (77,8%)	5 (55,6%)	3 (75,0%)
PD (Прогрессирование заболевания)	14 (23,0%)	2 (50,0%)	2 (40,0%)	1 (11,1%)	0	2 (33,3%)	2 (22,2%)	2 (22,2%)	2 (22,2%)	1 (25,0%)
NE (Не оценивают)	7 (11,5%)	1 (25,0%)	0	0	2 (33,3%)	1 (16,7%)	1 (11,1%)	0	2 (22,2%)	0
Частота объективных ответов (CR+PR)	4 (6,6%)	0	0	2 (22,2%)	1 (16,7%)	0	1 (11,1%)	0	0	0
Частота контроля заболевания (PR+PR+SD)	40 (65,6%)	1 (25,0%)	3 (60,0%)	8 (88,9%)	4 (66,7%)	3 (50,0%)	6 (66,7%)	7 (77,8%)	5 (55,6%)	3 (75,0%)

Таблица 12: Подтвержденная частота ответов – повышение дозы

	Всего	25 мг	50 мг	80 мг	100 мг	140 мг	200 мг	400 мг	800 мг	1200 мг
N	61	4	5	9	6	6	9	9	9	4
Подтвержденный наилучший общий ответ										
CR (Полный ответ)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PR (Частичный ответ)	2 (3,3%)	0	0	1 (11,1%)	1 (16,7%)	0	0	0	0	0
SD (Стабильное заболевание)	38 (62,3%)	1 (25,0%)	3 (60,0%)	7 (77,8%)	3 (50,0%)	3 (50,0%)	6 (66,7%)	7 (77,8%)	5 (55,6%)	3 (75,0%)
PD (Прогрессирование заболевания)	14 (23,0%)	2 (50,0%)	2 (40,0%)	1 (11,1%)	0	2 (33,3%)	2 (22,2%)	2 (22,2%)	2 (22,2%)	1 (25,0%)
NE (Не оценивают)	7 (11,5%)	1 (25,0%)	0	0	2 (33,3%)	1 (16,7%)	1 (11,1%)	0	2 (22,2%)	0
Подтвержденная частота объективного ответа (CR+PR)	2 (3,3%)	0	0	1 (11,1%)	1 (16,7%)	0	0	0	0	0
Подтвержденная частота контроля заболевания (PR+PR+SD)	40 (65,6%)	1 (25,0%)	3 (60,0%)	8 (88,9%)	4 (66,7%)	3 (50,0%)	6 (66,7%)	7 (77,8%)	5 (55,6%)	3 (75,0%)

Расширение:

Расширенная когорта 1: По состоянию на 12 октября 2020 года 24 пациента были включены в расширенную когорту 1, в которую вошли пациенты с NSCLC (получившие предшествующее лечение PD-1/L1). 12 пациентов оценивали после
5 исходного уровня с подтвержденным прогрессированием на фоне терапии ингибиторами контрольных точек или после нее (Фигура 5).

Заключения:

GEN1046 является первым в своем классе биспецифическим антителом нового поколения PD-L1x4-1BB с приемлемым профилем безопасности и
10 обладающей ранней клинической активностью, в отличие от существующих агонистов 4-1BB.

В фазе повышения дозы этого исследования фазы I/IIa GEN1046 продемонстрировал контролируемый профиль безопасности и первичную
15 клиническую активность в популяции пациентов с распространенными солидными опухолями, получавших предшествующее интенсивное лечение.

Подавляющее большинство побочных эффектов были от легких до умеренных; связанное с лечением повышение уровня трансаминазы 3-й степени устранили кортикостероидами. Не наблюдалось связанного с лечением
20 повышения билирубина или повышения уровня трансаминазы 4-й степени. У шести пациентов был дозолимитирующий токсический эффект (DLT); не была достигнута максимально переносимая доза (MTD).

Клинический эффект при различных уровнях дозы наблюдался у пациентов, в том числе у тех, кто был резистентен к предшествующей иммунотерапии, и у
25 таковых с опухолями, как правило, менее чувствительными к ингибиторам иммунных контрольных точек (ICI).

Контроль заболевания был достигнут у 65,6% пациентов, включая частичный ответ при тройном отрицательном раке молочной железы (1), раке яичников (1) и NSCLC, предварительно получавших лечение ICI (2).

Модуляция фармакодинамических конечных точек наблюдалась в широком
30 диапазоне уровней доз, демонстрирующих биологическую активность.

Обнадеживающие первичные ответы наблюдались у расширенной когорты, в настоящее время включающей пациентов NSCLC, которые ранее получали иммунотерапию контрольных точек.

Пример 7: Фармакокинетическая/фармакодинамическая модель

Была разработана интегрированная полумеханистическая PK/PD (фармакокинетическая/фармакодинамическая) модель, которая предполагает распределение GEN1046 в центральные и периферические PK ФК компартменты, а также разделение на опухолевый и лимфатический компартменты. Модель использует PK (фармакокинетические) и фармакодинамические данные, а также физиологические параметры из литературы для параметризации экспрессии PD-L1 и 4-1BB и переноса Т-клеток в эти клетки. Компартменты модели состоят из хорошо перемешанных 2- и 3-мерных пространств и свободного переноса лекарственного средства между всеми компартментами. Дополнительно, в модель включено динамическое связывание GEN1046 с PD-L1 и 4-1BB для прогнозирования образования тримеров (связывание с PD-L1 и 4-1BB) и занятости рецепторов (RO) для PD-L1 и 4-1BB в опухоли. Симуляции показали, что образование тримера является оптимальным при дозе 80 мг, а предсказанная моделью RO в опухоли для PD-L1 и 4-1BB считалась достаточной при дозах от 80 до 140 мг. Увеличение доз ≥ 200 мг приводило к уменьшению образования тримеров. Дополнительно, на основании имеющихся клинических фармакодинамических данных более высокая величина и стабильная модуляция периферических фармакодинамических конечных точек (IFN γ и пролиферирующих Ki67+ эффекторных CD8+ Т-клеток памяти) наблюдались при дозах ≤ 200 мг. В свете предсказаний ФК/фармакодинамического моделирования и имеющихся клинических данных, оптимальная доза GEN1046 по прогнозам должна находиться в пределах от 80 до 140 мг. При дозе 100 мг 1Q3W максимальное образование тримера и среднее значение RO для PD-L1 (%) поддерживаются на приемлемом уровне во всем интервале дозирования.

Предсказанное моделью максимальное образование тримера и занятость рецептора PDL1 при 100 мг 1Q3W показано на Фигуре 6.

Пример 8: GEN1046 в сочетании с дотакселом в сингенной мышью модели опухоли MC38

Методы

Раковые клетки толстой кишки мыши MC38 культивировали в модифицированной среде Игла фирмы Dulbecco с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сыворотки при температуре

37°C, 5% CO₂. Клетки MC38 собирали из культуры клеток, растущей в логарифмической фазе, и проводили количественное определение.

Клетки MC38 (1×10^6 опухолевых клеток в 100 μ л PBS) вводили подкожно в правый нижний бок самок мышей C57BL/6 (получены от Vital River

5 Laboratories Research Models and Services; возраст 6-8 недель на момент начала эксперимента).

Рост опухоли оценивали три раза в неделю при использовании циркуля-
калипера. Объемы опухоли (мм^3) рассчитывали на основе измерений циркулем-
калипером, как $([\text{длина}] \times [\text{ширина}]^2) / 2$, где длина - самый длинный размер
10 опухоли, а ширина - самый большой размер опухоли, перпендикулярный длине.

Мышей рандомизировали на группы ($n = 10$ на группу) со средним объемом
опухоли 64 мм^3 до начала лечения. В дни лечения мышам внутрибрюшинно
вводили mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (0,5 мг/кг; объем инъекции $10 \mu\text{м}/\text{г}$ массы тела;
две дозы еженедельно в течение трех недель [2QW \times 3]), доцетаксел (10 мг/кг;
15 объем инъекции $10 \mu\text{м}/\text{г}$ массы тела; QW \times 3), комбинация mbsIgG2a-PD-L1x4-
1BB (0,5 мг/кг; 2QW \times 3) с доцетакселом (10 мг/кг; в виде двух отдельных
инъекций [mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB с последующим введением доцетаксела через
30 мин] с объемом инъекции, равным $10 \mu\text{м}/\text{г}$ массы тела; QW \times 3), или PBS с
объемом инъекции $10 \mu\text{м}/\text{г}$ массы тела (Таблица 13).

20 За мышами ежедневно наблюдали на наличие клинических признаков
заболевания. Измерения массы тела проводились три раза в неделю после
рандомизации. Эксперимент заканчивался для отдельных мышей, когда объем
опухоли превышал 1500 мм^3 или когда животные достигали гуманных конечных
точек (например, когда у мышей наблюдалась потеря массы тела $> 20\%$, когда
25 опухоли изъязвлялись [$> 75\%$], когда наблюдались серьезные клинические
признаки и/или когда рост опухоли блокировал физическую активность мышей).

Таблица 13. Группы лечения и режим дозирования

Группа лечения	N на группу	Лечение	Доза ^a	Способ введения дозы	Режим дозирования	Seq ID/ поставщик, каталожный номер
1	10	PBS	N/A	IP	2QW \times 3 ^a	N/A
2	10	Доцетаксел	10 мг/кг	IP	QW \times 3 ^a	Hengrui Medicine
3	10	mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB	0,5 мг/кг	IP	2QW \times 3 ^a	SEQ ID NOs: 30-36

Группа лечения	N на группу	Лечение	Доза ^a	Способ введения дозы	Режим дозирования	Seq ID/ поставщик, каталожный номер
4	10	mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB + Доцетаксел	0,5 мг/кг + 10 мг/кг	IP	2QW×3 + QW×3 ^a	SEQ ID NOs: 30-36 Hengrui Medicine

^a 2QW×3: две дозы в неделю в течение трех недель

Результаты

Быстрый рост опухоли наблюдался у мышей, несущих MC38, получавших PBS (Фигура 7А). У мышей, получавших доцетаксел (10 мг/кг; QW×3) или mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (0,5 мг/кг; 2QW×3), рост опухоли был сопоставим с группой, получавшей PBS (Фигура 7А). Однако у мышей, получавших mbsIgG2a-PD-L1 x 4-1BB (0,5 мг/кг; 2QW=3) в сочетании с доцетакселом (10 мг/кг; QW=3), рост опухоли был замедлен (Фигура 7А). Анализ Каплана-Мейера показал, что лечение комбинацией mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB и доцетаксела индуцировало значительное увеличение выживаемости без прогрессирования, определяемое как процент мышей с объемом опухоли менее 500 мм³, по сравнению с группой, получавшей PBS (p<0,01), и по сравнению с mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB или только с доцетакселом (p<0,05; Мантел-Кокс; Фигура 7В, Таблица 14). Следовательно, эти результаты согласуются с усилением противоопухолевой активности комбинацией доцетаксела и mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB. Кроме того, комбинированное лечение хорошо переносилось, поскольку не наблюдалось существенной потери массы тела.

Таблица 14. Анализ Мантела-Кокса выживаемости без прогрессирования, индуцированной mbsIgG2a-PD-L1 x 4-1BB, доцетакселом (как таковым, так и в сочетании) на модели MC38 у мышей C57BL/6

Сравнение групп лечения			Выживаемость без прогрессирования ¹
			Mantel-Cox P value
PBS	По сравнению	доцетаксел	0,994
PBS	По сравнению	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	0,967
PBS	По	mbsIgG2a-PD-L1×4-	0,009

Сравнение групп лечения			Выживаемость без прогрессирования ¹
			Mantel-Cox P value
	сравнению	1BB + доцетаксел	
Доцетаксел	По сравнению	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	0,785
Доцетаксел	По сравнению	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + доцетаксел	0,033
mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	По сравнению	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + доцетаксел	0,022

¹Объем опухоли < 500мм³ использовали в качестве критерия выживаемости без прогрессирования заболевания. Анализ Мантела-Кокса проводили после прогрессирования у всех животных до объема опухоли более 500 мм³.

- 5 Эти результаты дают основание для оценки комбинации GEN1046 с доцетакселом у онкологических больных для повышения противоопухолевой эффективности и повышения выживаемости

Пример 9: Комбинация с доцетакселом

В части исследования, связанной с повышением дозы, MTD не определялся, и дозы до 1200 мг 1 раз в 3 недели вводились безопасно. Определение дозы основывалось на совокупности доступных данных о клинической эффективности и безопасности, а также на величине и постоянстве иммуномодуляции конечных точек PD и PK/PD прогностических моделях. Первичные данные по безопасности показали, что возникновение наиболее частых побочных эффектов, таких как повышение уровня ALT/AST, не зависит от дозы и, следовательно, не требует более низкой начальной дозы GEN1046 по соображениям безопасности. Первичная эффективность наблюдалась при дозах от 80 до 200 мг Q3W (Пример б), а конечные точки клинической фармакодинамической активности указывали на устойчивую модуляцию пролиферирующих (Ki67+) эффекторных CD8+ Т-клеток памяти и циркулирующих уровней IFN γ при дозах \leq 200 мг Q3W. Эти результаты соответствовали прогнозируемому оптимальному образованию тримера и средней занятости рецептора для блокады PD-L1 в опухоли, что наблюдалось при дозах в пределах от 80 до 140 мг Q3W с использованием механистического моделирования. Наиболее частыми побочными эффектами, о

которых сообщалось у пациентов, получавших GEN1046, были повышение активности трансаминазы, за которыми следовали гипертиреоз, утомляемость, тошнота, астения и снижение количества нейтрофильных лейкоцитов. Хотя сообщалось о легком или умеренном повышении уровня трансаминазы у 5 пациентов с раком NSCLC, получавших доцетаксел в дозе 75 мг/м², эти побочные эффекты наблюдались нечасто. Другие распространенные побочные эффекты доцетаксела, которые совпадают с побочными реакциями, наблюдаемыми при приеме GEN1046, включают утомляемость, тошноту, астению и пониженное количество нейтрофильных лейкоцитов. Однако эти 10 проявления наблюдаются не так часто при приеме GEN1046, как при приеме доцетаксела, и подавляющее большинство проявлений являются легкими или умеренными.

Первоначальная оценка GEN1046 в сочетании с доцетакселом проводилась у субъектов с метастатическим NSCLC, прогрессирующим на фоне проведения 15 химиотерапии препаратами на основе платины и терапии ингибиторами PD-L1. GEN1046 вводили в сочетании с доцетакселом (Taxotere®) с помощью внутривенной инфузии в 1-й день каждого 3-недельного цикла лечения до прогрессирования заболевания или до достижения одного из заранее определенных критериев прекращения лечения. Инфузию доцетаксела начинали 20 по меньшей мере через 30 минут после введения GEN1046. Исходя из ограниченного потенциала дополнительной токсичности при применении комбинации и отсутствия четкой дозозависимости GEN1046 от побочных эффектов и эффективности, доза GEN1046 была установлена на уровне 100 мг. Доцетаксел вводили в дозе 55 мг/м² или 75 мг/м² в зависимости от числа 25 наблюдаемых ранее дозоограничивающих токсических эффектов. Максимальная протестированная доза доцетаксела составляет 75 мг/м². Доза GEN1046 100 мг 1Q3, применяемая для комбинированного лечения, представляет рекомендуемую дозу фазы 2 (RP2D), определенную в фазе исследования повышения дозы.

В группе комбинированной терапии (NSCLC): GEN1046 в сочетании с 30 доцетакселом применяются следующие критерии включения:

- могут быть включены субъекты с NSCLC с любой гистологией. Субъекты с гистологически или цитологически подтвержденными диагнозами несквамозного NSCLC не должны иметь сенсibiliзирующую мутацию эпидермального фактора роста (EGFR) и/или транслокацию (ALK)/перестройку

ROS1. Сенсibiliзирующие мутации EGFR являются мутациями, поддающимися лечению при использовании одобренных TKI. Документы о статусе EGFR и ALK должны быть доступны для локальной оценки. Если документы о статусе EGFR и ALK недоступны, для включения требуется одобрение медицинского наблюдателя от спонсора.

• Субъект столкнулся с прогрессированием во время/после лечения анти-PD1/Лиганд 1 (L1) моноклональным антителом (mAb), как при монотерапии, так и при комбинированной терапии.

• Субъект столкнулся с прогрессированием во время/после лечения двухкомпонентной химиотерапией препаратами на основе платины метастатического заболевания с или без лечения анти-PD1/Лиганд 1 (L1) моноклональным антителом mAb.

Прогрессирование заболевания во время/после лечения PD-анти-PD1/лигандом 1 (L1)1 определяется соответствием следующим критериям:

- Получение по меньшей мере 2 доз одобренного анти-PD-1/L1 mAb
- Прогрессирование заболевания (PD) во время/после получения анти-PD-1/L1, как определено RECIST 1.1.

Первичные результаты:

К ноябрю 2021 года в общей сложности 12 пациентов были включены в исследование и получали дозы GEN1046 и доцетаксел: шесть пациентов получали дозу 55 мг/м² доцетаксела и шесть пациентов получили дозу 75 мг/м² доцетаксела. Четыре пациента продолжали лечение: один пациент получал дозу 55 мг/м² доцетаксела и трое пациентов получали дозу 75 мг/м² доцетаксела. В общей сложности восемь пациентов не получали лечения. Основными причинами отказа от лечения были: задокументированное рентгенографическое прогрессирование заболевания (5 субъектов), прекращение лечения субъектом из-за прогрессирования заболевания, отчет о серьезном побочном эффекте (SAE) (1 субъект), субъекту было предложено прекратить экспериментальное лечение (1 субъект) и прекращение лечения из-за дыхательной недостаточности вследствие прогрессирования заболевания (1 субъект).

Таблица 15: Совокупные побочные эффекты, связанные с лечением по степени тяжести. А: 55 мг/м² доцетакселя; В: 75 мг/м² доцетакселя

А

	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Общее количество получавших лечение с соответствующими ТЕАЕ	4	4	3	0	0
Анемия	0	0	3	0	0
Утомляемость	0	2	1	0	0
Лихорадочное состояние	1	0	0	0	0
Тошнота	1	0	0	0	0
Вагинальное кровотечение	1	0	0	0	0
Пониженный аппетит	0	1	0	0	0
Рвота	0	1	0	0	0
Одышка	0	1	0	0	0
Повышенный уровень щелочной фосфатазы в крови	0	1	0	0	0
Гипокалемия	0	1	0	0	0
Гипомагниемия	1	0	0	0	0
Синусовая тахикардия	0	1	0	0	0
Алопеция	1	0	0	0	0
Пониженное количество нейтрофильных лейкоцитов	0	0	1	0	0

5

В

	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Общее количество получавших лечение с соответствующими ТЕАЕ	4	4	2	1	0
Утомляемость	1	2	2	0	0
Одышка	1	2	0	0	0
Гипергликемия	1	0	1	0	0
Повышенный уровень аланинаминотрансферазы	1	0	0	0	0
Повышенный уровень липазы	0	1	0	0	0
Тошнота	0	1	0	0	0
Анемия	0	1	0	0	0
Рвота	1	0	0	0	0
Повышенный уровень амилазы	1	0	0	0	0
Мышечно-скелетная боль в молочной железе	0	1	0	0	0

	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Кашель	1	0	0	0	0
Кожный зуд	1	0	0	0	0
Сухость во рту	1	0	0	0	0
Пониженное количество нейтрофильных лейкоцитов	0	0	0	1	0
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь	1	0	0	0	0
Аномальный уровень тиреотропного гормона в крови	1	0	0	0	0
Икота	0	1	0	0	0
Синдром ладонно- подошвенной эритродизестезии (PPE)	1	0	0	0	0

Таблица 16: Связанные с лечением доцетакселом побочные эффекты по степени тяжести. А: 55 мг/м² доцетаксела, В: 75 мг/м² доцетаксела

А

Название побочного эффекта (АЕ) (кодированное)	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Анемия	1	2	2	0	0
Утомляемость	0	2	1	0	0
Лихорадочная нейтропения	0	0	1	0	0
Тошнота	1	0	0	0	0
Дисгевзия	0	1	0	0	0
Пониженное количество нейтрофильных лейкоцитов	0	0	0	1	0
Пониженное количество лейкоцитов	0	0	0	1	0
Гипокалемия	0	1	0	0	0
Гипомагниемия	1	0	0	0	0
Лихорадочное состояние	1	1	0	0	0
Рвота	0	2	0	0	0
Повышение уровня щелочной фосфатазы в крови	0	1	1	0	0
Гипонатриемия	1	0	0	0	0
Кровоподтеки в местах инфузии	1	0	0	0	0

В

Название побочного эффекта (АЕ) (кодированное)	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Утомляемость	1	2	0	0	0
Тошнота	1	2	0	0	0
Анемия	0	0	1	0	0
Повышенное слезотечение	1	0	0	0	0
Диарея	1	0	0	0	0
Не обозначено кодом: периферическая сенсорная невропатия	1	0	0	0	0
Рвота	0	0	0	1	0
Одышка	0	1	0	0	0
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь	0	1	0	0	0
Икота	0	1	0	0	0
Рвота	1	0	0	0	0
Пониженное количество нейтрофильных лейкоцитов	0	0	1	1	0

Токсичность, представляющая особый интерес:

5 Гепатотоксичность: не сообщалось о гепатотоксичности, связанной, как с GEN1046, так и с доцетакселом.

Миелосупрессия: новых эффектов нейтропении в период DLT не выявлено. Нет существенной разницы в анемии между уровнями доз.

Иммуноопосредованная токсичность: для GEN1046 не сообщалось.

10 Не было снижения доз или отказа в период DLT. Прием Доцетаксела был прерван во время единичного случая кровоизлияния в области инфузии (55 мг/м²).

Эффективность:

15 Первичные данные об эффективности были получены от шести субъектов, которым вводили GEN1046 и 75 мг/м² доцетаксела. У одного из шести пациентов первое сканирование после исходного уровня указывало на ответ в соответствии с критериями RECIST v1.1.

Краткий обзор:

- Дозы получали 12 субъектов
- Не сообщалось о дозоограничивающих токсических эффектах при обоих уровнях доз доцетаксела (55 мг/м² или 75 мг/м²)

- Не наблюдалось серьезных побочных эффектов, связанных с GEN1046 в период дозограничивающих токсических эффектов.

- Более высокая доза 75 мг/м^2 доцетаксела является приемлемой.

- Не сообщалось о токсичности, связанной с иммунной системой, данные не предполагают дополнительной или синергетической токсичности.

- Комбинация является приемлемой и хорошо переносимой

- Первичный признак ответа у субъектов, получавших дозы GEN1046 и 75 мг/м^2 доцетаксела.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ уменьшения или профилактики прогрессирующей опухоли или
лечения рака у субъекта, включающий обеспечение субъекта комбинированным
лечением

I) связывающим агентом, содержащим первую связывающую область,
связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область,
связывающуюся с человеческим PD-L1; и

II) таксановым химиотерапевтическим агентом.

2. Способ по п. 1, включающий введение связывающего агента и
таксанового химиотерапевтического агента указанному субъекту по меньшей
мере в одном курсе лечения.

3. Способ по любому из предшествующих пунктов, где первая
связывающая область связывается с человеческим CD137, имеющим
последовательность, представленную в SEQ ID NO: 24, и/или вторая
связывающая область связывается с человеческим PD-L1, имеющим
последовательность, представленную в SEQ ID NO: 26

4. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент
активирует человеческий CD137, когда связывается с ним, и ингибирует
связывание человеческого PD-L1 с человеческим PD-1, когда связывается с PD-
L1.

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, где
а) первая связывающая область содержит переменную область тяжелой
цепи (VH), содержащую последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 SEQ ID NO:
1, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательности
CDR1, CDR2 и CDR3 SEQ ID NO: 5;

и

б) вторая антиген-связывающая область содержит переменную область
тяжелой цепи (VH), содержащую последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 SEQ

ID NO: 8, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 SEQ ID NO: 12.

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, где

5 а) первая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 2, 3 и 4, соответственно, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 6, GAS, 7, соответственно;

10 и

б) вторая антиген-связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 9, 10, 11, соответственно, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 13, DDN, 14, соответственно.

7. Способ по любому из предшествующих пунктов, где

а) первая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 5;

25 и

б) вторая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12.

30

8. Способ по любому из предшествующих пунктов, где

а) первая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5;

и

б) вторая связывающая область содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 12.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент представляет антитело, мультиспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент имеет формат полноразмерного антитела или фрагмента антитела.

11. Способ по любому из пп. 5-10, где каждая переменная область содержит три определяющие комплементарность области (CDR1, CDR2 и CDR3) и четыре каркасные области (FR1, FR2, FR3 и FR4).

12. Способ по п. 11, где указанные определяющие комплементарность области и указанные каркасные области расположены от амино-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

13. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий:

I) полипептид, содержащий, состоящий или по существу состоящий из указанной переменной области первой тяжелой цепи (VH) и константной области первой тяжелой цепи (CH), и

II) полипептид, содержащий, состоящий или по существу состоящий из указанной переменной области второй тяжелой цепи (VH) и константной области второй тяжелой цепи (CH).

14. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий:

I) полипептид, содержащий указанную переменную область первой легкой цепи (VL) и дополнительно содержащий константную область первой легкой цепи (CL), и

II) полипептид, содержащий указанную переменную область второй легкой цепи (VL) и дополнительно содержащий константную область второй легкой цепи (CL).

15. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент представляет антитело, содержащее первое связывающее плечо и второе связывающее плечо, где

первое связывающее плечо содержит:

I) полипептид, содержащий указанную переменную область первой тяжелой цепи (VH) и указанную константную область первой тяжелой цепи (CH), и

II) полипептид, содержащий указанную переменную область первой легкой цепи (VL) и указанную константную область первой легкой цепи (CL); и второе связывающее плечо содержит:

I) полипептид, содержащий указанную переменную область второй тяжелой цепи (VH) и указанную константную область второй тяжелой цепи (CH), и

II) полипептид, содержащий указанную переменную область второй легкой цепи (VL) и указанную константную область второй легкой цепи (CL).

16. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий:

I) первую тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую указанную антиген-связывающую область, способную связываться с CD137, и

II) вторую тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую указанную антиген-связывающую область, способную связываться с PD-L1.

17. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент содержит:

I) первую тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую указанную антиген-связывающую область, способную связываться с CD137, первая тяжелая цепь содержит константную область первой тяжелой цепи, и первая легкая цепь содержит константную область первой легкой цепи; и

II) вторую тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую указанную антиген-связывающую область, способную связываться с PD-L1, вторая тяжелая цепь содержит константную область второй тяжелой цепи, и вторая легкая цепь содержит константную область второй легкой цепи.

18. Способ по любому из пп. 13-17, где каждая из константных областей первой и второй тяжелых цепей (СН) содержит одну или более константную область (СН1) 1 тяжелой цепи, шарнирную область, константную область (СН2) 2 тяжелой цепи и константную область (СН3) 3 тяжелой цепи, предпочтительно по меньшей мере шарнирную область, СН2 область и СН3 область.

19. Способ по любому из пп. 13-18, где каждая из константных областей первой и второй тяжелых цепей (СН) содержит СН3 область, и где две СН3 области содержат асимметричные мутации.

20. Способ по любому из пп. 13-19, где в указанной константной области первой тяжелой цепи (СН) по меньшей одна из аминокислот в положении, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из Т366, L368, К370, D399, F405, Y407 и К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU замещена, и в указанной константной области второй тяжелой цепи (СН) по меньшей одна из аминокислот в положении, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из Т366, L368, К370, D399, F405, Y407 и К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU замещена, и где указанная первая и указанная вторая тяжелые цепи не замещены в одних и тех же положениях

21. Способ по п. 20, где (I) аминокислота в положении, соответствующем F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU, представляет

L в указанной константной области первой тяжелой цепи (СН), и аминокислота в положении, соответствующем К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU, представляет R в указанной константной области второй тяжелой цепи (СН), или (II) аминокислота в положении, соответствующем К409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU, представляет R в указанной первой тяжелой цепи, и аминокислота в положении, соответствующем F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU, представляет L в указанной второй тяжелой цепи.

10 22. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент индуцирует Fc-опосредованную эффекторную функцию в меньшей степени по сравнению с другим антителом, содержащим те же первую и вторую антиген-связывающие области и две константные области (СН) тяжелой цепи, содержащие шарнир человеческого IgG1, СН2 и СН3 области.

15 23. Способ по п. 22, где указанные константные области (СН) первой и второй тяжелой цепи модифицированы, таким образом, что антитело индуцирует Fc-опосредованную эффекторную функцию в меньшей степени по сравнению с идентичным антителом, которое содержит не модифицированные константные
20 области (СН) первой и второй тяжелых цепей.

24. Способ по п. 23, где каждая из указанных не модифицированных константных областей (СН) первой и второй тяжелых цепей содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 15.

25 25. Способ по любому из пп. 23-24, где указанная Fc-опосредованная эффекторная функция измеряется связыванием с рецепторами Fcγ, связыванием с C1q или индуцированием Fc-опосредованного перекрестного связывания рецепторов Fcγ.

30 26. Способ по п. 25, где указанную Fc-опосредованную эффекторную функцию измеряют связыванием с C1q.

27. Способ по любому из пп. 22-26, где указанные константные области первой и второй тяжелой цепи модифицированы, таким образом, что связывание C1q с указанным антителом будет снижено по сравнению с антителом дикого типа, предпочтительно снижено по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97% или на 100%, где связывание с C1q определяют при использовании ELISA.

28. Способ по любому из предшествующих пунктов, где по меньшей мере в одной из указанных константных областей (СН) первой и второй тяжелых цепей, одна или более из аминокислот находится в положениях, соответствующих положениям L234, L235, D265, N297 и P331 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU, не являются L, L, D, N и P, соответственно.

29. Способ по п. 28, где положения, соответствующие положениям L234 и L235 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU, представляют F и E, соответственно, в указанных первой и второй тяжелых цепях.

30. Способ по п. 28 или 29, где положения, соответствующие положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU, представляют F, E и A, соответственно, в указанных константных областях (СН) первой и второй тяжелых цепей.

31. Способ по любому из пп. 28-30, где положения, соответствующие положениям L234 и L235 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU константных областей обеих первой и второй тяжелых цепей, представляют F и E, соответственно, и где (I) положение, соответствующее F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU константной области первой тяжелой цепи представляет L, и положение, соответствующее K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU второй тяжелой цепи, представляет R, или (II) положение, соответствующие K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU константной области первой тяжелой цепи, представляет R, и положение, соответствующие F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU второй тяжелой цепи, представляет L.

32. Способ по любому из пп. 28-31, где положения, соответствующие положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU константных областей обеих первой и второй тяжелых цепей, представляют F, E и A, соответственно, и где (I) положение, соответствующие F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU константной области первой тяжелой цепи, представляет L, и положение, соответствующие K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU константной области второй тяжелой цепи, представляет R, или (II) положение, соответствующие K409 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU первой тяжелой цепи, представляет R, и положение, соответствующие F405 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно нумерации EU второй тяжелой цепи, представляет L.

33. Способ по любому из пп. 13-32, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

- а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 15 [IgG1-FC],
- б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и
- в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

34. Способ по любому из пп. 13-33, где константная область указанной первой или второй тяжелой цепи, такой как вторая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

- а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 16 [IgG1-F405L],

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или С-конца последовательности, как определено в а); и

5 в) последовательности, имеющей максимально 9 замен, такой как имеющей максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

10 35. Способ по любому из пп. 13-34, где константная область указанной первой или второй тяжелой цепи, такой как первая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 17 [IgG1-F409R]

15 б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или С-конца последовательности, как определено в а); и

20 в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

25 36. Способ по любому из пп. 13-35, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 18 [IgG1-Fc_FEA],

30 б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или С-конца последовательности, как определено в а); и

в) последовательности, имеющей максимально 7 замен, такой как имеющей максимально 6 замен, максимально 5, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

5

37. Способ по любому из пп. 13-36, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи, такой как вторая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

10 а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 20 [IgG1-Fc_FEAL],

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и

15 в) последовательности, имеющей максимально 6 замен, такой как имеющей максимально 5 замен, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

20 38. Способ по любому из пп. 13-37, где константная область указанной первой и/или второй тяжелой цепи, такой как первая тяжелая цепь, содержит или состоит, или по существу состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 19 [IgG1-Fc_FEAR]

25 б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и

30 в) последовательности, имеющей максимально 6 замен, такой как имеющей максимально 5 замен, максимально 4, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

39. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент содержит константную область каппа (κ) легкой цепи.

5 40. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент содержит константную область лямбда (λ) легкой цепи.

10 41. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная константная область первой легкой цепи представляет константную область каппа (κ) легкой цепи.

42. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная константная область второй легкой цепи представляет константную область лямбда (λ) легкой цепи.

15 43. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная константная область первой легкой цепи представляет константную область лямбда (λ) легкой цепи.

20 44. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная константная область второй легкой цепи представляет константную область каппа (κ) легкой цепи.

45. Способ по любому из пп. 39-44, где каппа (κ) легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

25 а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 21,

б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, как определено в а); и

30 в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену, по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

46. Способ по любому из пп. 40-45, где лямбда (λ) легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

а) последовательности, представленной в SEQ ID NO: 22,

5 б) подпоследовательности последовательности в а), такой как подпоследовательность, в которой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 последовательных аминокислот были удалены, начиная с N-конца или C-конца последовательности, определенной в а); и

10 в) последовательности, имеющей максимально 10 замен, такой как имеющей максимально 9 замен, максимально 8, максимально 7, максимально 6, максимально 5, максимально 4 замен, максимально 3, максимально 2 или максимально 1 замену, по сравнению с аминокислотной последовательностью, определенной в а) или б).

15 47. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент представляет изотип, выбранный из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

20 48. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент представляет полноразмерное IgG1 антитело.

49. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело представляет IgG1m(f) аллотипа.

25 50. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело представляет акасунлимаб или его биоаналог.

30 51. Способ по любому из предшествующих пунктов, где таксан выбирают из группы, состоящей из доцетаксела, паклитаксела, кабазитаксела и тезетаксела.

52. Способ по любому из предшествующих пунктов, где таксановый химиотерапевтический препарат представляет доцетаксел.

53. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество связывающего агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет:

- а) около 0,3-15 мг/кг массы тела или в целом около 25-1200 мг; и/или
 б) около $2,1 \times 10^{-9} - 1,2 \times 10^{-7}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times 10^{-7} - 8,1 \times 10^{-6}$ моль.

54. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество связывающего агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет:

- а) около 0,3-10 мг/кг массы тела или в целом около 25-800 мг; и/или
 б) около $2,1 \times 10^{-9} - 6,8 \times 10^{-8}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times 10^{-7} - 5,4 \times 10^{-6}$ моль.

55. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество связывающего агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет:

- а) около 0,3-5 мг/кг массы тела или в целом около 25-400 мг; и/или
 б) около $2,1 \times 10^{-9} - 3,4 \times 10^{-8}$ моль/кг массы тела или в целом около $1,7 \times 10^{-7} - 2,7 \times 10^{-6}$ моль.

56. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество связывающего агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет:

- а) около 1,25 мг/кг массы тела или в целом около 100 мг; и/или
 б) около $8,5 \times 10^{-9}$ моль/кг массы тела или в целом около $6,8 \times 10^{-7}$ моль.

57. Способ по любому из предшествующих пунктов, где количество таксанового химиотерапевтического агента, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет около 10-200 мг/м², такое как 20-40 мг/м², 30-50 мг/м², 40-100 мг/м², 50-100 мг/м², 50-80 мг/м², 50-70 мг/м², 50-60 мг/м², 50-110 мг/м², 60-100 мг/м², 60-100 мг/м², 60-90 мг/м², 70-80 мг/м², 80-200 мг/м², 90-180 мг/м², 90-110 мг/м², 100-175 мг/м², или такое как около 170-180 мг/м².

58. Способ по любому из предшествующих пунктов, где таксановый химиотерапевтический агент представляет доцетаксел, и количество, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет около $50-60 \text{ мг/м}^2$, такое как около 55 мг/м^2 .

59. Способ по любому из предшествующих пунктов, где таксановый химиотерапевтический агент представляет доцетаксел, и количество, вводимое в каждой дозе и/или в каждом курсе лечения, составляет около $70-80 \text{ мг/м}^2$, такое как около 75 мг/м^2 .

60. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент и/или таксановый химиотерапевтический агент вводят системно.

61. Способ по любому из предшествующих пунктов, где связывающий агент и/или таксановый химиотерапевтический агент вводят внутривенной инъекцией или инфузией.

62. Способ по любому из предшествующих пунктов, где по меньшей мере одну дозу указанного связывающего агента и по меньшей мере одну дозу указанного таксанового химиотерапевтического препарата вводят в каждом курсе лечения.

63. Способ по любому из предшествующих пунктов, где каждый курс лечения составляет три недели (21 день).

64. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный связывающий агент и указанный таксановый химиотерапевтический агент вводят в один и тот же день.

65. Способ по любому из предшествующих пунктов, где каждую дозу указанного связывающего агента вливают в течение минимум 30 минут, например, в течение минимум 60 минут, минимум 90 минут, минимум 120 минут или минимум 240 минут.

66. Способ по любому из предшествующих пунктов, где введение связывающего агента предшествует введению таксанового химиотерапевтического агента по меньшей мере за 30 минут, например, по меньшей мере за 1 час или такое как по меньшей мере за 2 часа.

5

67. Способ по любому из предшествующих пунктов, где одну дозу указанного связывающего агента и/или одну дозу указанного таксанового химиотерапевтического агента вводят в 1 день каждого курса лечения.

10

68. Способ по любому из предшествующих пунктов, где одну дозу указанного связывающего агента вводят каждую третью неделю (1Q3W), например, в 1 день каждого трехнедельного курса лечения.

15

69. Способ по любому из предшествующих пунктов, где одну дозу указанного таксанового химиотерапевтического агента вводят каждую третью неделю (1Q3W), например, в 1 день каждого трехнедельного курса лечения.

70. Способ по любому из предшествующих пунктов, где каждой дозе таксанового химиотерапевтического агента предшествует премедикация стероидами, такая как премедикация пероральным кортикостероидом; например, введение около 8 мг дексаметазона 2 раза в день в течение 3 дней, начиная за 1 день до введения таксанового химиотерапевтического агента.

20

71. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект является человеком.

72. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет солидную опухоль.

25

73. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет выбранный из группы, состоящей из меланомы, рака яичников, рака легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), колоректального рака, рака головы и шеи, рака желудка, рака молочной железы,

рака почки, рака уротелия, рака мочевого пузыря, рака пищевода, рака поджелудочной железы, рака печени, тимомы и карциномы тимуса, рака головного мозга, глиомы, аденокарциномы, рака щитовидной железы, других видов рака кожи, саркомы, множественной миеломы, лейкемии, лимфомы, миелодиспластического синдрома, рака яичников, рака эндометрия, рака предстательной железы, рака полового члена, рака шейки матки, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, карциномы Меркеля и мезотелиомы.

74. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет выбранный из группы, состоящей из рака легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), рака уротелия (рак мочевого пузыря, мочеточника, мочеиспускательного канала или почечной лоханки), рака эндометрия (EC), рака молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), плоскоклеточной карциномы головы и шеи (SCCHN) (например, рака полости рта, глотки или гортани) и рака шейки матки.

75. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак легкого.

76. Способ по п. 75, где рак легкого представляет немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), такой как плоскоклеточный или не плоскоклеточный NSCLC.

77. Способ по п. 76, где NSCLC не имеет сенсibiliзирующей мутации эпидермального фактора роста (EGFR) и/или транслокации киназы анапластической лимфомы (ALK)/перестройки ROS1.

78. Способ по любому из пп. 75-77, где субъект получал вплоть до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

79. Способ по п. 78, где субъект получал химиотерапию препаратами на основе платины.

80. Способ по п. 78, где субъект не соответствует установленным критериям для терапии препаратами на основе платины и получал альтернативную химиотерапию, например, лечение по схеме, содержащей гемцитабин.

5

81. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

10

82. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект столкнулся с прогрессированием заболевания во время или после лечения ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

15

83. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект столкнулся с прогрессированием заболевания во время или после последнего предшествующего лечения ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

20

84. Способ по любому из пп. 78-83, где субъект столкнулся с прогрессированием заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

25

85. Способ по любому из предшествующих пунктов, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

30

86. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак эндометрия.

87. Способ по п. 86, где у субъекта эпителиальный эндометрий гистологически включает эндометриоидную, серозную, плоскоклеточную, светлоклеточную карциному или карциносаркому.

5 88. Способ по п. 86 или 87, где субъект получал вплоть до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

10 89. Способ по любому из пп. 86-88, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

15 90. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак уротелия, включая рак мочевого пузыря, мочеточника, мочеиспускательного канала или почечной лоханки.

20 91. Способ по п. 90, где субъект получал вплоть до четырех предшествующих схем системного лечения прогрессирующего/метастатического заболевания и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

25 92. Способ по п. 90 или п. 91, где субъект получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

30 93. Способ по п. 90 или п. 91, где субъект получал химиотерапию препаратами на основе платины.

94. Способ по любому из пп. 90 или п. 91, где субъект не соответствует установленным критериям для терапии препаратами на основе платины и

получал альтернативную химиотерапию, например, лечение по схеме, содержащей гемцитабин.

5 95. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак молочной железы, такой как трижды негативный рак молочной железы (TNBC).

10 96. Способ по п. 95, где TNBC представляет HER2 -отрицательный, такой, как определено при использовании флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) или определении экспрессии белка иммуногистохимией. PR (рецептор к прогестерону) - отрицательный, ER (рецептор к эстрагену) - отрицательный.

15 97. Способ по п. 95 или 96, где субъект получал по меньшей мере одну предшествующую схему системного лечения местно- прогрессирующего/метастатического заболевания, такую как по меньшей мере одна предшествующая схема системного лечения, включая схемы, включающие антрациклины, таксаны, антиметаболиты или ингибиторы микротрубочек.

20 98. Способ по п. 97, где субъект получал максимально 4 предшествующих схем системного лечения местно-прогрессирующего/метастатического заболевания для лечения указанного рака молочной железы, включая, по меньшей мере, одну предшествующую схему системного лечения, включающую антрациклин, таксан, антиметаболит или ингибитор микротрубочек.

25 99. Способ по любому из пп. 95-98, где субъект получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

30 100. Способ по п. 99, где субъект столкнулся с прогрессированием заболевания во время или после указанного предшествующего лечения ингибитором(ами) контрольных точек, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

101. Способ по любому из пп. 95-98, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

5 102. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак головы и шеи, такой как плоскоклеточная карцинома головы и шеи (SCCHN).

10 103. Способ по п. 102, где опухоль или рак представляет рецидивирующий или метастатический SCCHN.

104. Способ по п. 102 или 103, где опухоль или рак представляет рак полости рта, глотки или гортани.

15 105. Способ по любому из пп. 102-104, где субъект получал вплоть до четырех предшествующих схем системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания и имел прогрессирование заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное
20 рентгенографией.

106. Способ по п. 105, где субъект получал химиотерапию препаратами на основе платины.

25 107. Способ по п. 105, где субъект не соответствует установленным критериям для терапии препаратами на основе платины и получал альтернативную химиотерапию.

30 108. Способ по любому из пп. 102-107, где субъект получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, такой как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

109. Способ по п. 108, где субъект столкнулся с прогрессированием заболевания во время или после указанного предшествующего лечения

ингибитором(ами) контрольных точек, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

5 110. Способ по любому из пп. 102-107, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

10 111. Способ по любому из предшествующих пунктов, где опухоль или рак представляет рак шейки матки.

112. Способ по п. 111, где рак шейки матки гистологически является плоскоклеточной карциномой, аденокарциномой или аденоплоскоклеточной карциномой.

15 113. Способ по п. 111 или 112, где субъект получал по меньшей мере одну предшествующую схему системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания, такую как химиотерапия в комбинации с лечением, нацеленным на фактор роста эндотелия сосудов А, таким как лечение с помощью бевацизумаба, и имел прогрессирование
20 заболевания во время или после последнего предшествующего системного лечения, такое как прогрессирование заболевания, определенное рентгенографией.

25 114. Способ по п. 113, где субъект получал максимально 4 предшествующие схемы системного лечения рецидивирующего/метастатического заболевания, включая химиотерапию в комбинации с лечением, нацеленным на фактор роста эндотелия сосудов А, таким как лечение с помощью бевацизумаба.

30 115. Способ по любому из пп. 111-114, где субъект не получал предшествующее лечение ингибитором(ами) контрольных точек, таким как агент(ы), нацеленный(ые) на PD-1/PD-L, такой как ингибитор PD-1/PD-L1.

116. Композиция, содержащая таксановый химиотерапевтический агент и связывающий агент, содержащий первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1.

5

117. Композиция по п. 116, где количество связывающего агента в композиции составляет около 25-400 мг или $1,7 \times 10^{-7} - 2,7 \times 10^{-6}$ моль.

118. Композиция по п. 116, содержащая около 80 мг указанного связывающего агента.

10

119. Композиция по любому из пп. 116-118, где связывающий агент представляет таковой по любому из пп. 3-50.

120. Композиция по любому из пп. 116-119, где таксановый химиотерапевтический препарат представляет таковой по любому из пп. 51-52.

15

121. Композиция по любому из пп. 116-120, где композиции предназначена для системного введения.

20

122. Композиция по любому из пп. 116-121, где композиция предназначена для инъекции или инфузии, такой как внутривенная инъекция или инфузия.

123. Композиция по любому из пп. 116-122, где связывающий агент и таксановый химиотерапевтический препарат представляют водный раствор, такой как 0,9% NaCl (солевой раствор) в объеме 50-500 мл, таком как 100-250 мл.

25

124. Связывающий агент, содержащий первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1, для применения при лечении рака или для применения для снижения или профилактики прогрессирования опухоли, где связывающий агент используют в комбинации с таксановым химиотерапевтическим агентом.

30

125. Связывающий агент для применения по п. 124, где связывающий агент представляет таковой по любому из пп. 3-50.

5 126. Связывающий агент для применения по п. 124 или п.125, где таксановый химиотерапевтический агент представляет таковой по любому из пп. 51-52.

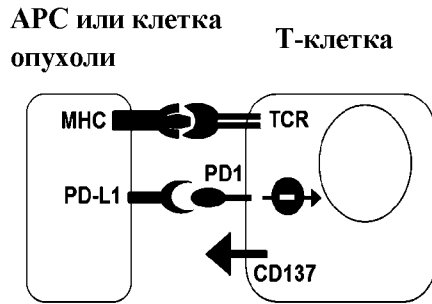
10 127. Таксановый химиотерапевтический агент для применения при лечении рака или для применения для снижения или профилактики прогрессирования опухоли, где таксановый химиотерапевтический агент используют в комбинации со связывающим агентом, содержащим первую связывающую область, связывающуюся с человеческим CD137, и вторую связывающую область, связывающуюся с человеческим PD-L1.

15 128. Таксановый химиотерапевтический агент для применения по п. 127, где связывающий агент представляет таковой по любому из пп. 3-50.

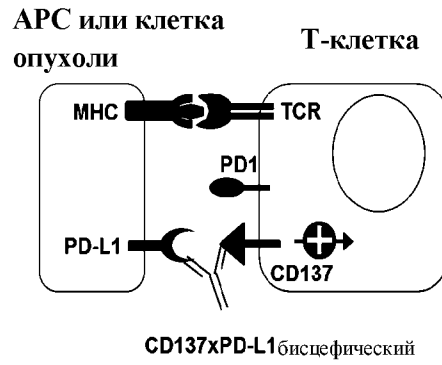
20 129. Таксановый химиотерапевтический агент для применения по п. 127 или п. 128, где таксановый химиотерапевтический агент представляющий таковой по любому из пп. 51-52.

Фигура 1

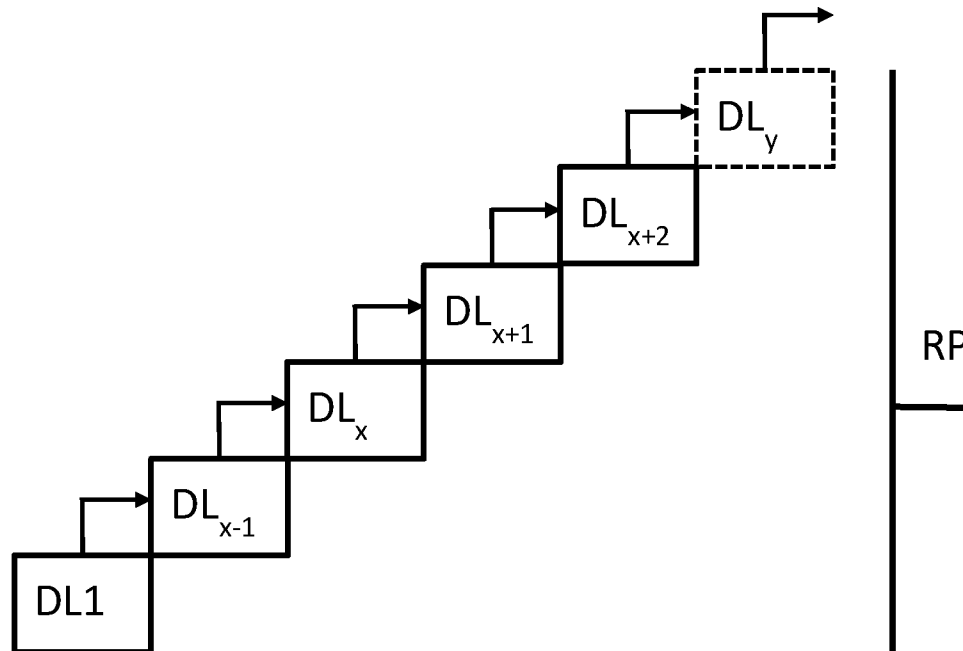
**PD-1 опосредованное
А. ингибирование Т-клеток**



**PD-L1-блокада + коstimуляция Т-
В. клеток**



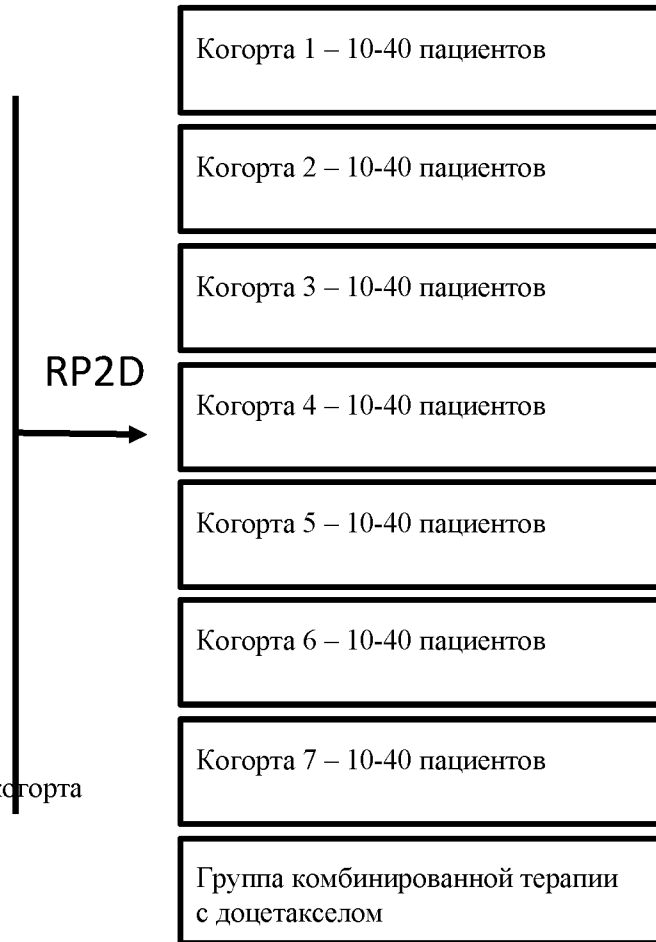
Часть увеличения дозы



- = Ускоренная фаза заболевания (одна единственная когорта пациентов)
- = modCRM EWOC (3 когорты пациентов)

DL_x : Уровень дозы, при котором осуществляется переход от одной когорты пациентов к 3 когортам пациентов
 DL_y : Самый высокий исследованный уровень дозы

Часть расширения

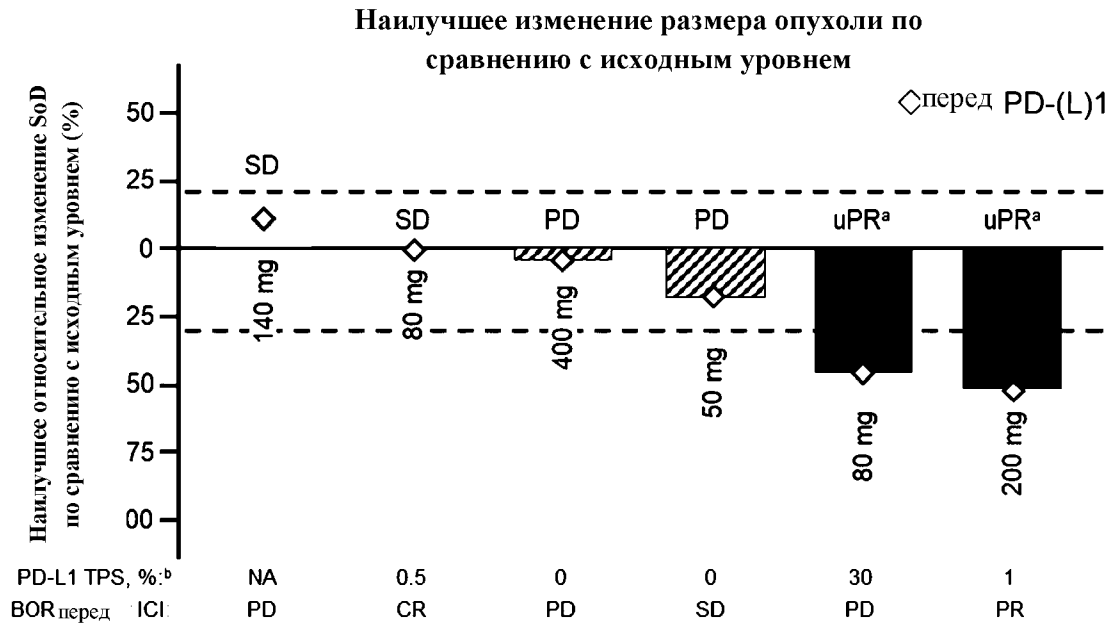


Фигура 2

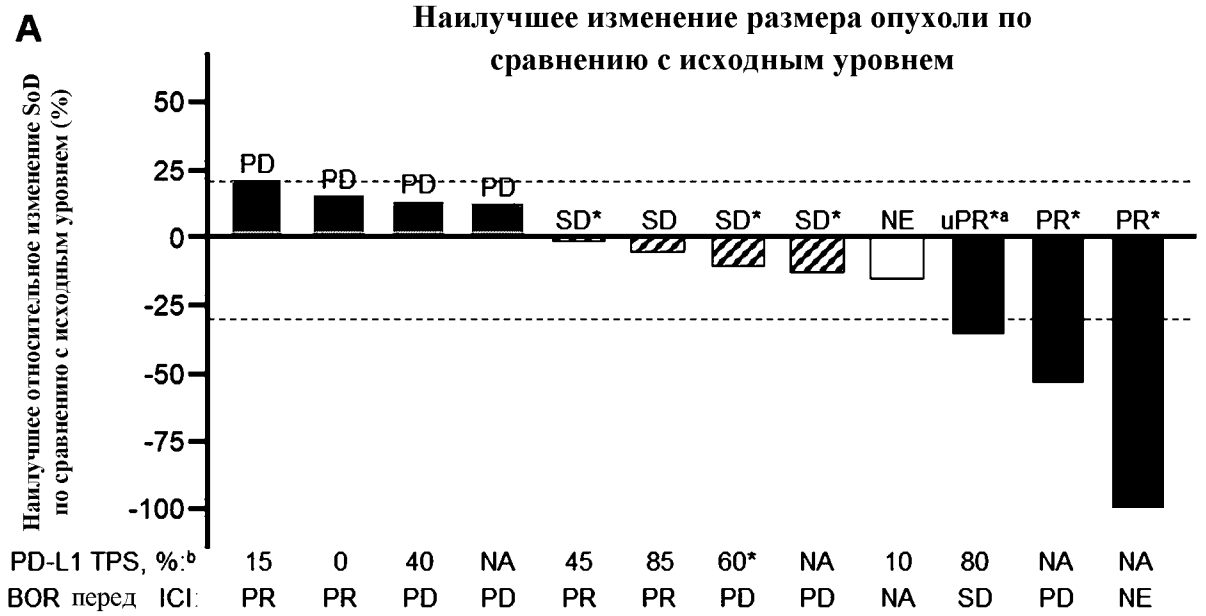
Фигура 3



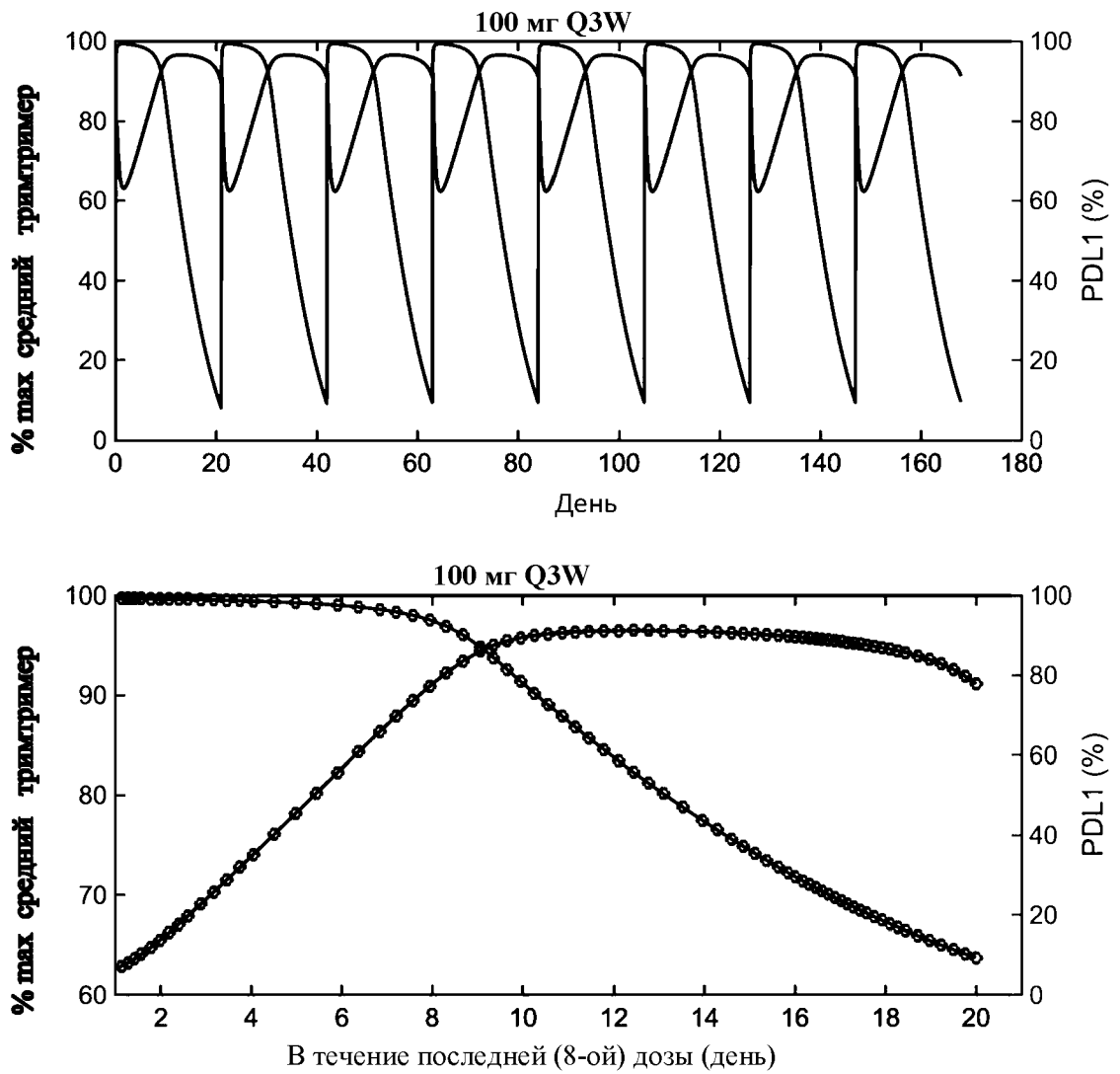
Фигура 4



Фигура 5



Фигура 6



Фигура 7

