



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.02.09

(21) Номер заявки
201992112

(22) Дата подачи заявки
2018.03.30

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
C12Q 1/68 (2018.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛИ

(31) **62/479,817; 62/582,146**

(32) **2017.03.31; 2017.11.06**

(33) **US**

(43) **2020.02.11**

(86) **PCT/US2018/025518**

(87) **WO 2018/183928 2018.10.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)**

(72) Изобретатель:
**Бхагаватесваран Прабху Сешайер,
Ботвуд Николас Аллан Джон, Чан
Хань, Фу Яли, Гис Уильям Дж., Грин
Джордж А. IV, Хили Дайан, Майер
Сабина, Натан Фейт Е., Оукессоу
Абдеррахим, Сельвагги Джованни,
Чустаковски Джозеф Дэниэл (US)**

(74) Представитель:
**Гизатуллин Ш.Ф., Угрюмов В.М.,
Глухарёва А.О. (RU)**

(56) N. A. RIZVI ET AL.: "Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer", SCIENCE, vol. 348, no. 6230, 3 April 2015 (2015-04-03), pages 124-128, XP055322846, US ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.aaa1348, abstract, page 5, figures 2, 4A

RIZVI ET AL.: "Supplementary Materials for Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer", Science, 3 April 2015 (2015-04-03), XP002776519, Retrieved from the Internet: URL: <http://science.sciencemag.org/content/sci/suppl/2015/03/11/science.aaa1348.DC1/Rizvi-SM.pdf> [retrieved on 2017-12-08], the whole document

OMID HAMID ET AL.: "Safety and Tumor Responses with Lambrolizumab (Anti-PD-1) in Melanoma", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 369, no. 2, 11 July 2013 (2013-07-11), pages 134-144, XP055182016, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1305133, the whole document

RAEDLER LISA A.: "Keytruda (Pembrolizumab): First PD-1 Inhibitor Approved for Previously Treated Unresectable or Metastatic Melanoma", AMERICAN HEALTH & DRUG BENEFITS, ENGAGE

HEALTHCARE COMMUNICATIONS, LLC, US, vol. 8, no. Spec Feature, 1 March 2015 (2015-03-01), pages 96-100, XP002779389, ISSN: 1942-2962, the whole document
ALEX PHILIPPIDIS: "Merck Melanoma Drug Is First PD-1 Inhibitor OK'd by FDA", GEN News Highlights, 5 September 2014 (2014-09-05), XP002779390, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.genengnews.com/print/35850> [retrieved on 2018-03-21], the whole document

WO-A1-2016077553

ROSENBERG JONATHAN E. ET AL.: "Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial", THE LANCET (LETTERS TO THE EDITOR), vol. 387, no. 10031, 4 March 2016 (2016-03-04), pages 1909-1920, XP029530539, THE LANCET PUBLISHING GROUP, GB ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00561-4, page 1917, right-hand column figure 3, page 1918, last paragraph

ROSENBERG ET AL.: "Supplement to: Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial", THE LANCET, 4 March 2016 (2016-03-04), XP002776669, Retrieved from the Internet: URL: <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0140673616005614-mmcl.pdf> [retrieved on 2017-12-13], pages 2-3, 23, figure 5A

ALEXANDRA SNYDER ET AL.: "Genetic Basis for Clinical Response to CTLA-4 Blockade in Melanoma", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, THE - NEJM -, vol. 371, no. 23, 4 December 2014 (2014-12-04), pages 2189-2199, XP055262135, US ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1406498, page 2189, page 2194, right-hand column, page 2195

WO-A2-2015103037

STEPHANE CHAMPIAT ET AL.: "Exomics and immunogenics", ONCOIMMUNOLOGY, vol. 3, no. 1, 1 January 2014 (2014-01-01), pages e27817-1-e27817-6, XP055342251, DOI: 10.4161/onci.27817 figure 1b pages e27817-3, middle column pages e27817-3, right-hand column pages e27817-4, left-hand column, pages e27817-5

Anonymous: "FoundationOne: Technical Information and Test Overview", FoundationOne, 18 August 2014 (2014-08-18), XP002776670, Retrieved from the Internet: URL: https://assets.contentful.com/vhribv12lmne/6YRrchSIN0eSu48YwuesoY/caecc492925a7d569ce4e070866f709b/F1_-_Tech_Specs.pdf [retrieved on 2017-12-13], the whole document

RAMASWAMY GOVINDAN ET AL.: "Genomic Landscape of Non-Small Cell Lung Cancer in Smokers and Never-Smokers [Article including Supplemental Information]", CELL, vol. 150 14 September 2012 (2012-09-14), pages 1121-1134, S1, XP002776672, DOI: 10.1016/J.CELL.2012.08.024, Retrieved from the Internet: URL:https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0092867412010227-mmc5.pdf, tables S1, S2

SHIEN KAZUHIKO ET AL.: "Predictive biomarkers of response to PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer", LUNG CANCER, vol. 99, 1 September 2016 (2016-09-01), pages 79-87, XP002776520, (AMSTERDAM, NETHERLANDS) ISSN: 1872-8332, abstract, page 82, right-hand column WO-A2-2016081947

CELINE BOUTROS ET AL.: "Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies alone and

in combination", NATURE REVIEWS CLINICAL ONCOLOGY, vol. 13, no. 8, 4 May 2016 (2016-05-04), pages 473-486, XP055393186, NY, US ISSN: 1759-4774, DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.58, figures 2-3, page 482, right-hand column, page 483, left-hand column, page 484, right-hand column, page 474, right-hand column WO-A1-2018068028

Foundation Medicine: "Foundation Medicine Announces Commercial Availability of FoundationOne CDx[TM], the First FDA-Approved Comprehensive Genomic Profiling Assay for All Solid Tumors Incorporating Multiple Companion Diagnostics", Business Wire News, 30 March 2018 (2018-03-30), XP002781326, Retrieved from the Internet: URL:https://www.businesswire.com/news/home/20180330005010/en/Foundation-Medicine-Announces-Commercial-Availability-FoundationOne-CDx[TM] [retrieved on 2018-05-24]

(57) Изобретение обеспечивает способ лечения субъекта, пораженного опухолью, например раком легкого, имеющим статус высокой мутационной нагрузки опухоли (ТМВ), включающий проведение у субъекта иммунотерапии, например, анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью. Также настоящее изобретение обеспечивает способ идентификации субъекта, подходящего для иммунотерапии, например лечения анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью, включающий измерение статуса ТМВ биологического образца от субъекта. Статус высокой ТМВ идентифицирует пациента как подходящего для лечения анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью. Статус ТМВ может быть определен путем секвенирования нуклеиновых кислот в опухоли и идентификации геномного изменения, например соматической несинонимической мутации в секвенированных нуклеиновых кислотах.

046134 B1

046134 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение обеспечивает способ лечения субъекта, пораженного опухолью, имеющей статус высокой мутационной нагрузки опухоли (ТМВ), включающий проведение у субъекта иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенных вариантах осуществления иммунотерапия включает анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть, или анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающую часть.

Ссылка на перечень последовательностей, представленный в электронном виде

Содержание представленного в электронном виде перечня последовательностей в текстовом файле ASCII (имя: 3338066PC02_sequence_ST25.txt; размер: 38235 байт; и дата создания: 30 марта 2018 г.) полностью включено в настоящее описание посредством ссылки.

Предпосылки создания изобретения

Рак человека несет многочисленные генетические и эпигенетические изменения, приводящие к появлению неоантигенов, потенциально узнаваемых иммунной системой (Sjoblom et al., Science (2006) 314(5797):268-274). Адаптивная иммунная система, состоящая из Т- и В-лимфоцитов, обладает мощным противораковым потенциалом с широким охватом и исключительной специфичностью ответа на различные опухолевые антигены. Кроме того, иммунная система демонстрирует значительную пластичность и компонент памяти. Успешное использование всех этих особенностей адаптивной иммунной системы может сделать иммунотерапию уникальной среди всех способов лечения рака.

До недавнего времени значительные усилия в области иммунотерапии рака были сосредоточены на подходах, которые усиливают противоопухолевые иммунные ответы путем адаптивного переноса активированных эффекторных клеток, иммунизации против соответствующих антигенов или обеспечения неспецифических иммуностимулирующих агентов, таких как цитокины. Однако в последнее десятилетие интенсивные усилия по разработке специфических ингибиторов путей иммунных контрольных точек привели к появлению новых иммунотерапевтических подходов к лечению рака, включая разработку антител, таких как ниволумаб и пембролизумаб (ранее ламбролизумаб; USAN Council Statement, 2013), которые специфически связываются с рецептором программируемой смерти-1 (PD-1) и блокируют ингибиторный путь PD-1/лиганд PD-1 (Topalian et al., 2012a, b; Topalian et al., 2014; Hamid et al., 2013; Hamid and Carvajal, 2013; McDermott and Atkins, 2013).

PD-1 представляет собой ключевой рецептор иммунных контрольных точек, экспрессируемый активированными Т- и В-клетками, и опосредует иммуносупрессию. PD-1 является членом семейства рецепторов CD28, которое включает CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1 и BTLA. Было идентифицировано два присутствующих на клеточной поверхности гликопротеиновых лиганда для PD-1: лиганд-1 программируемой смерти клеток (PD-L1) и лиганд-2 программируемой смерти клеток (PD-L2), которые экспрессируются на антигенпрезентирующих клетках, а также во многих злокачественных опухолях человека и, как было показано, снижают активацию Т-клеток и секрецию цитокинов после связывания с PD-1. Ингибирование взаимодействия PD-1/PD-L1 опосредует высокую противоопухолевую активность в доклинических моделях (патенты США 8008449 и 7943743), и применение антител-ингибиторов взаимодействия PD-1/PD-L1 для лечения рака находится в стадии клинических испытаний (Brahmer et al., 2010; Topalian et al., 2012a; Topalian et al., 2014; Hamid et al., 2013; Brahmer et al., 2012; Flies et al., 2011; Pardoll, 2012; Hamid and Carvajal, 2013).

Ниволумаб (ранее называемый 5C4, BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538) представляет собой полностью человеческое антитело IgG4 (S228P), действующее как ингибитор рецептора иммунных контрольных точек PD-1, которое избирательно предотвращает взаимодействие с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), тем самым блокируя понижающую регуляцию противоопухолевых функций Т-клеток (патент США 8008449; Wang et al., 2014). Ниволумаб показал активность в различных солидных опухолях в поздней стадии, включая почечно-клеточную карциному (почечную аденокарциному или гипернефрому), меланому и мелкоклеточный рак легкого (NSCLC) (Topalian et al., 2012a; Topalian et al., 2014; Drake et al., 2013; WO 2013/173223).

Иммунная система и ответ на иммунотерапию являются сложными. Кроме того, противораковые агенты могут различаться по своей эффективности в зависимости от уникальных характеристик пациента. Таким образом, существует необходимость в таргетных терапевтических стратегиях, которые идентифицируют пациентов, которые с большей долей вероятности будут отвечать на конкретный противораковый агент и тем самым улучшать клинический результат для пациентов, у которых диагностирован рак.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение обеспечивает способ лечения субъекта, пораженного опухолью, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-PD-1 антитела или его антигенсвязывающей части, при этом опухоль имеет статус мутационной нагрузки опухоли (ТМВ), который представляет собой высокую мутационную нагрузку опухоли (ТМВ). В некоторых вариантах осуществления способа, кроме того, включает измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ идентификации субъекта, подходящего для те-

рапии анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью, включающий измерение статуса ТМВ биологического образца от субъекта, при этом статус ТМВ представляет собой высокую ТМВ, тем самым идентифицируют субъекта как подходящего для терапии анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью. В одном варианте осуществления способ, кроме того, включает введение субъекту анти-PD-1 антитела или его антигенсвязывающей части.

В некоторых вариантах осуществления статус ТМВ определяют путем секвенирования нуклеиновых кислот в опухоли и идентификации геномных изменений в секвенированных нуклеиновых кислотах. В некоторых вариантах осуществления геномное изменение включает одну или несколько соматических мутаций. В некоторых вариантах осуществления геномное изменение включает одну или несколько синонимических мутаций. В конкретном варианте осуществления геномное изменение включает одну или несколько миссенс-мутаций. В других конкретных вариантах осуществления геномное изменение включает одно или несколько изменений, выбранных из группы, состоящей из замены пары оснований, вставки пары оснований, делеции пары оснований, изменения количества копий (CNA), перестройки генов и любой их комбинации.

В конкретных вариантах осуществления статус ТМВ определяют путем геномного секвенирования, экзомного секвенирования и/или геномного профилирования. В одном варианте осуществления геномный профиль содержит по меньшей мере 300 генов, по меньшей мере 305 генов, по меньшей мере 310 генов, по меньшей мере 315 генов, по меньшей мере 320 генов, по меньшей мере 325 генов, по меньшей мере 330 генов, по меньшей мере 335 генов, по меньшей мере 340 генов, по меньшей мере 345 генов, по меньшей мере 350 генов, по меньшей мере 355 генов, по меньшей мере 360 генов, по меньшей мере 365 генов, по меньшей мере 370 генов, по меньшей мере 375 генов, по меньшей мере 380 генов, по меньшей мере 385 генов, по меньшей мере 390 генов, по меньшей мере, 395 генов или по меньшей мере 400 генов. В конкретном варианте осуществления геномный профиль содержит по меньшей мере 325 генов.

В одном варианте осуществления геномный профиль содержит один или более генов, выбранных из группы, состоящей из ABL1, BRAF, CHEK1, FANCC, GATA3, JAK2, MITF, PDCD1LG2, RBM10, STAT4, ABL2, BRCA1, CHEK2, FANCD2, GATA4, JAK3, MLH1, PDGFRA, RET, STK11, ACVR1B, BRCA2, CIC, FANCE, GATA6, JUN, MPL, PDGFRB, RICTOR, SUFU, AKT1, BRD4, CREBBP, FANCF, GID4 (C17orf39), KAT6A (MYST3), MRE11A, PDK1, RNF43, SYK, AKT2, BRIP1, CRKL, FANCG, GLI1, KDM5A, MSH2, PIK3C2B, ROS1, TAF1, AKT3, BTG1, CRLF2, FANCL, GNA11, KDM5C, MSH6, PIK3CA, RPTOR, TBX3, ALK, BTK, CSF1R, FAS, GNA13, KDM6A, MTOR, PIK3CB, RUNX1, TERC, AMER1 (FAM123B), C11orf30 (EMSY), CTCF, FAT1, GNAQ, KDR, MUTYH, PIK3CG, RUNX1T1, TERT (только промотор), APC, CARD11, CTNNA1, FBXW7, GNAS, KEAP1, MYC, PIK3R1, SDHA, TET2, AR, CBFB, CTNNB1, FGF10, GPR124, KEL, MYCL (MYCL1), PIK3R2, SDHB, TGFB2, ARAF, CBL, CUL3, FGF14, GRIN2A, KIT, MYCN, PLCG2, SDHC, TNFAIP3, ARFRP1, CCND1, CYLD, FGF19, GRM3, KLHL6, MYD88, PMS2, SDHD, TNFRSF14, ARID1A, CCND2, DAXX, FGF23, GSK3B, KMT2A (MLL), NF1, POLD1, SETD2, TOP1, ARID1B, CCND3, DDR2, FGF3, H3F3A, KMT2C (MLL3), NF2, POLE, SF3B1, TOP2A, ARID2, CCNE1, DICER1, FGF4, HGF, KMT2D (MLL2), NFE2L2, PPP2R1A, SLIT2, TP53, ASXL1, CD274, DNMT3A, FGF6, HNF1A, KRAS, NFKBIA, PRDM1, SMAD2, TSC1, ATM, CD79A, DOT1L, FGFR1, HRAS, LMO1, NKX2-1, PREX2, SMAD3, TSC2, ATR, CD79B, EGFR, FGFR2, HSD3B1, LRP1B, NOTCH1, PRKAR1A, SMAD4, TSHR, ATRX, CDC73, EP300, FGFR3, HSP90AA1, LYN, NOTCH2, PRKCI, SMARCA4, U2AF1, AURKA, CDH1, EPHA3, FGFR4, IDH1, LZTR1, NOTCH3, PRKDC, SMARCB1, VEGFA, AURKB, CDK12, EPHA5, FH, IDH2, MAGI2, NPM1, PRSS8, SMO, VHL, AXIN1, CDK4, EPHA7, FLCN, IGF1R, MAP2K1, NRAS, PTCH1, SNCAIP, WISP3, AXL, CDK6, EPHB1, FLT1, IGF2, MAP2K2, NSD1, PTEN, SOCS1, WT1, BAP1, CDK8, ERBB2, FLT3, IKBKE, MAP2K4, NTRK1, PTPN11, SOX10, XPO1, BARD1, CDKN1A, ERBB3, FLT4, IKZF1, MAP3K1, NTRK2, QKI, SOX2, ZBTB2, BCL2, CDKN1B, ERBB4, FOXL2, IL7R, MCL1, NTRK3, RAC1, SOX9, ZNF217, BCL2L1, CDKN2A, ERG, FOXP1, INHBA, MDM2, NUP93, RAD50, SPEN, ZNF703, BCL2L2, CDKN2B, ERFF1, FRS2, INPP4B, MDM4, PAK3, RAD51, SPOP, BCL6, CDKN2C, ESR1, FUBP1, IRF2, MED12, PALB2, RAF1, SPTA1, BCOR, CEVPA, EZH2, GABRA6, IRF4, MEF2B, PARK2, RANBP2, SRC, BCORL1, CHD2, FAM46C, GATA1, IRS2, MEN1, PAX5, RARA, STAG2, BLM, CHD4, FANCA, GATA2, JAK1, MET, PBRM1, RB1, STAT3 и любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления способы, кроме того, включают идентификацию геномного изменения в одном или более из ETV4, TMPRSS2, ETV5, BCR, ETV1, ETV6 и MYB.

В некоторых вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 210, по меньшей мере 215, по меньшей мере 220, по меньшей мере 225, по меньшей мере 230, по меньшей мере 235, по меньшей мере 240, по меньшей мере 245, по меньшей мере 250, по меньшей мере 255, по меньшей мере 260, по меньшей мере 265, по меньшей мере 270, по меньшей мере 275, по меньшей мере 280, по меньшей мере 285, по меньшей мере 290, по меньшей мере 295, по меньшей мере 300, по меньшей мере 305, по меньшей мере 310, по меньшей мере 315, по меньшей мере 320, по меньшей мере 325, по меньшей мере 330, по меньшей мере 335, по меньшей мере 340, по меньшей мере 345, по меньшей мере 350, по меньшей мере 355, по меньшей мере 360, по меньшей мере 365, по меньшей мере 370, по меньшей мере 375, по меньшей мере 380, по меньшей мере 385, по меньшей мере 390, по меньшей мере 395,

по меньшей мере 400, по меньшей мере 405, по меньшей мере 410, по меньшей мере 415, по меньшей мере 420, по меньшей мере 425 по меньшей мере 430, по меньшей мере 435, по меньшей мере 440, по меньшей мере 445, по меньшей мере 450, по меньшей мере 455, по меньшей мере 460, по меньшей мере 465, по меньшей мере 470, по меньшей мере 475, по меньшей мере 480, по меньшей мере 485, по меньшей мере 490, по меньшей мере 495 или по меньшей мере 500. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 215, по меньшей мере 220, по меньшей мере 221, по меньшей мере 222, по меньшей мере 223, по меньшей мере 224, по меньшей мере 225, по меньшей мере 226, по меньшей мере 227, по меньшей мере 228, по меньшей мере 229, по меньшей мере 230, по меньшей мере 231, по меньшей мере 232, по меньшей мере 233, по меньшей мере 234, по меньшей мере 235, по меньшей мере 236, по меньшей мере 237, по меньшей мере 238, по меньшей мере 239, по меньшей мере 240, по меньшей мере 241, по меньшей мере 242, по меньшей мере 243, по меньшей мере 244, по меньшей мере 245, по меньшей мере 246, по меньшей мере 247, по меньшей мере 248, по меньшей мере 249 или по меньшей мере 250. В конкретном варианте осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 243.

В некоторых вариантах осуществления способы, кроме того, включают сравнение статуса ТМВ субъекта с эталонным значением ТМВ. В одном варианте осуществления статус ТМВ субъекта находится в пределах самого высокого квантиля эталонного значения ТМВ. В другом варианте осуществления статус ТМВ субъекта находится в пределах верхнего тертиля эталонного значения ТМВ.

В некоторых вариантах осуществления биологический образец представляет собой опухолевую ткань, полученную путем биопсии, например, фиксированную формалином, залитую парафином опухолевую ткань или свежемороженную опухолевую ткань. В других вариантах осуществления биологический образец представляет собой жидкую биопсию. В некоторых вариантах осуществления биологический образец включает одно или несколько из крови, сыворотки, плазмы, exoRNA, циркулирующих опухолевых клеток, ctDNA и cfDNA.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется опухоль с высокой неоантигенной нагрузкой. В других вариантах осуществления субъект имеет увеличенный репертуар Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой рак легкого. В одном варианте осуществления рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC). NSCLC может иметь плоскоклеточную или неплоскоклеточную гистологию.

В других вариантах осуществления опухоль выбрана из почечно-клеточной карциномы, рака яичника, колоректального рака, рака желудочно-кишечного тракта, рака пищевода, рака мочевого пузыря, рака легкого и меланомы.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с человеческим PD-1. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающую часть. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1 человека или изотипа IgG4 человека. В конкретных вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть представляет собой ниволумаб или пембролизумаб.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе от 0,1 мг/кг до 10,0 мг/кг массы тела один раз каждые 2, 3 или 4 недели. В одном варианте осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 5 мг/кг или 10 мг/кг массы тела один раз каждые 3 недели. В другом варианте осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 5 мг/кг массы тела один раз каждые 3 недели. В еще одном варианте осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 3 мг/кг массы тела один раз каждые 2 недели.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы. В одном варианте осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы по меньшей мере около 200 мг, по меньшей мере около 220 мг, по меньшей мере около 240 мг, по меньшей мере около 260 мг, по меньшей мере около 280 мг, по меньшей мере около 300 мг, по меньшей мере около 320 мг, по меньшей мере около 340 мг, по меньшей мере около 360 мг, по меньшей мере около 380 мг, по меньшей мере около 400 мг, по меньшей мере около 420 мг, по меньшей мере около 440 мг, по меньшей мере около 460 мг, по меньшей мере около 480 мг, по меньшей мере около 500 мг или по меньшей мере около 550 мг. В другом варианте осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы один раз примерно каждые 1, 2, 3 или 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления субъект демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение по меньшей мере приблизительно одного месяца, по меньшей мере приблизительно 2 месяцев, по меньшей мере приблизительно 3 месяцев, по меньшей мере приблизительно 4 месяцев, по меньшей мере приблизительно 5 месяцев, по меньшей мере приблизительно 6 месяцев, по меньшей мере

приблизительно 7 месяцев, по меньшей мере приблизительно 8 месяцев, по меньшей мере приблизительно 9 месяцев, по меньшей мере приблизительно 10 месяцев, по меньшей мере приблизительно 11 месяцев, по меньшей мере приблизительно одного года, по меньшей мере приблизительно восемнадцати месяцев, по меньшей мере приблизительно двух лет, по меньшей мере приблизительно трех лет, по меньшей мере приблизительно четырех лет или по меньшей мере приблизительно пяти лет после введения.

В других вариантах осуществления субъект демонстрирует общую выживаемость, составляющую по меньшей мере приблизительно один месяц, по меньшей мере приблизительно 2 месяца, по меньшей мере, приблизительно 3 месяца, по меньшей мере приблизительно 4 месяца, по меньшей мере приблизительно 5 месяцев, по меньшей мере приблизительно 6 месяцев, по меньшей мере приблизительно 7 месяцев, по меньшей мере приблизительно 8 месяцев, по меньшей мере приблизительно 9 месяцев, по меньшей мере приблизительно 10 месяцев, по меньшей мере приблизительно 11 месяцев, по меньшей мере приблизительно один год, по меньшей мере приблизительно восемнадцати месяцев, по меньшей мере приблизительно двух лет, по меньшей мере приблизительно трех лет, по меньшей мере приблизительно четырех лет или по меньшей мере приблизительно пяти лет после введения.

В еще других вариантах осуществления субъект демонстрирует частоту объективных ответов, составляющую по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%.

В некоторых вариантах осуществления опухоль имеет экспрессию PD-L1, составляющую по меньшей мере около 1%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45 % или около 50%.

Другие особенности и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и примеров, которые не следует рассматривать как ограничивающие. Содержание всех цитируемых ссылок, в том числе научных статей, газетных публикаций, данных GenBank, патентов и патентных заявок, цитируемых в настоящей заявке, прямо включено в настоящий документ посредством ссылки.

Варианты осуществления

Вариант осуществления 1.

Способ лечения субъекта, пораженного опухолью, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающей части, которое специфически связывается с рецептором программируемой смерти-1 (PD-1) и ингибирует активность PD-1 ("анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть"), при этом опухоль имеет статус мутационной нагрузки опухоли (ТМВ), который представляет собой высокую ТМВ.

Вариант осуществления 2.

Способ по варианту осуществления 1, кроме того, включающий измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта.

Вариант осуществления 3.

Способ идентификации субъекта, подходящего для терапии анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью, включающий измерение статуса ТМВ биологического образца от субъекта, при этом статус ТМВ представляет собой высокую ТМВ и при этом субъект идентифицирован как подходящий для терапии анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью.

Вариант осуществления 4.

Способ по варианту осуществления 3, кроме того, включающий введение субъекту анти-PD-1 антитела или его антигенсвязывающей части.

Вариант осуществления 5.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-4, отличающийся тем, что статус ТМВ определяют путем секвенирования нуклеиновых кислот в опухоли и идентификации геномного изменения в секвенированных нуклеиновых кислотах.

Вариант осуществления 6.

Способ по варианту осуществления 5, отличающийся тем, что геномное изменение включает одну или несколько соматических мутаций.

Вариант осуществления 7.

Способ по варианту осуществления 5 или 6, отличающийся тем, что геномное изменение включает одну или несколько несинонимических мутаций.

Вариант осуществления 8.

Способ по любому из вариантов осуществления 5-7, отличающийся тем, что геномное изменение включает одну или несколько миссенс-мутаций.

Вариант осуществления 9.

Способ по любому из вариантов осуществления 5-8, отличающийся тем, что геномное изменение включает одно или несколько изменений, выбранных из группы, состоящей из замены пары оснований, вставки пары оснований, делеции пары оснований, изменения количества копий (CNA), перестройки

генов и любой их комбинации.

Вариант осуществления 10.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-9, отличающийся тем, что высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 210, по меньшей мере 215, по меньшей мере 220, по меньшей мере 225, по меньшей мере 230, по меньшей мере 235, по меньшей мере 240, по меньшей мере 245, по меньшей мере 250, по меньшей мере 255, по меньшей мере 260, по меньшей мере 265, по меньшей мере 270, по меньшей мере 275, по меньшей мере 280, по меньшей мере 285, по меньшей мере 290, по меньшей мере 295, по меньшей мере 300, по меньшей мере 305, по меньшей мере 310, по меньшей мере 315, по меньшей мере 320, по меньшей мере 325, по меньшей мере 330, по меньшей мере 335, по меньшей мере 340, по меньшей мере 345, по меньшей мере 350, по меньшей мере 355, по меньшей мере 360, по меньшей мере 365, по меньшей мере 370, по меньшей мере 375, по меньшей мере 380, по меньшей мере 385, по меньшей мере 390, по меньшей мере 395, по меньшей мере 400, по меньшей мере 405, по меньшей мере 410, по меньшей мере 415, по меньшей мере 420, по меньшей мере 425, по меньшей мере 430, по меньшей мере 435, по меньшей мере 440, по меньшей мере 445, по меньшей мере 450, по меньшей мере 455, по меньшей мере 460, по меньшей мере 465, по меньшей мере 470, по меньшей мере 475, по меньшей мере 480, по меньшей мере 485, по меньшей мере 490, по меньшей мере 495 или по меньшей мере 500.

Вариант осуществления 11.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-9, отличающийся тем, что высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 215, по меньшей мере 220, по меньшей мере 221, по меньшей мере 222, по меньшей мере 223, по меньшей мере 224, по меньшей мере 225, по меньшей мере 226, по меньшей мере 227, по меньшей мере 228, по меньшей мере 229, по меньшей мере 230, по меньшей мере 231, по меньшей мере 232, по меньшей мере 233, по меньшей мере 234, по меньшей мере 235, по меньшей мере 236, по меньшей мере 237, по меньшей мере 238, по меньшей мере 239, по меньшей мере 240, по меньшей мере 241, по меньшей мере 242, по меньшей мере 243, по меньшей мере 244, по меньшей мере 245, по меньшей мере 246, по меньшей мере 247, по меньшей мере 248, по меньшей мере 249 или по меньшей мере 250.

Вариант осуществления 12.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-11, отличающийся тем, что высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 243.

Вариант осуществления 13.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-12, кроме того, включающий сравнение статуса ТМВ субъекта с эталонным значением ТМВ.

Вариант осуществления 14.

Способ по варианту осуществления 13, отличающийся тем, что статус ТМВ субъекта находится в пределах самого высокого квантиля эталонного значения ТМВ.

Вариант осуществления 15.

Способ по варианту осуществления 13, отличающийся тем, что статус ТМВ субъекта находится в пределах верхнего тертиля эталонного значения ТМВ.

Вариант осуществления 16.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-15, отличающийся тем, что биологический образец представляет собой опухолевую ткань, полученную путем биопсии.

Вариант осуществления 17.

Способ по варианту осуществления 16, отличающийся тем, что опухолевая ткань представляет собой фиксированную формалином, залитую парафином опухолевую ткань или свежемороженную опухолевую ткань.

Вариант осуществления 18.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-15, отличающийся тем, что биологический образец представляет собой жидкую биопсию.

Вариант осуществления 19.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-15, отличающийся тем, что биологический образец включает одно или несколько из крови, сыворотки, плазмы, exoRNA, циркулирующих опухолевых клеток, ctDNA и cfDNA.

Вариант осуществления 20.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, отличающийся тем, что статус ТМВ определяют путем геномного секвенирования.

Вариант осуществления 21.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, отличающийся тем, что статус ТМВ определяют путем экзомного секвенирования.

Вариант осуществления 22.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, отличающийся тем, что статус ТМВ определяют путем геномного профилирования.

Вариант осуществления 23.

Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что геномный профиль содержит по меньшей мере 300 генов, по меньшей мере 305 генов, по меньшей мере 310 генов, по меньшей мере 315 генов, по меньшей мере 320 генов, по меньшей мере 325 генов, по меньшей мере 330 генов, по меньшей мере 335 генов, по меньшей мере 340 генов, по меньшей мере 345 генов, по меньшей мере 350 генов, по меньшей мере 355 генов, по меньшей мере 360 генов, по меньшей мере 365 генов, по меньшей мере 370 генов, по меньшей мере 375 генов, по меньшей мере 380 генов, по меньшей мере 385 генов, по меньшей мере 390 генов, по меньшей мере, 395 генов или по меньшей мере 400 генов.

Вариант осуществления 24. Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что геномный профиль содержит по меньшей мере 325 генов.

Вариант осуществления 25.

Способ по любому из вариантов осуществления 22-24, отличающийся тем, что геномный профиль содержит один или более генов, выбранных из группы, состоящей из ABL1, BRAF, CHEK1, FANCC, GATA3, JAK2, MITF, PDCD1LG2, RBM10, STAT4, ABL2, BRCA1, CHEK2, FANCD2, GATA4, JAK3, MLH1, PDGFRA, RET, STK11, ACVR1B, BRCA2, CIC, FANCE, GATA6, JUN, MPL, PDGFRB, RICTOR, SUFU, AKT1, BRD4, CREBBP, FANCF, GID4 (C17orf39), KAT6A (MYST3), MRE11A, PDK1, RNF43, SYK, AKT2, BRIP1, CRKL, FANCG, GLI1, KDM5A, MSH2, PIK3C2B, R0S1, TAF1, AKT3, BTG1, CRLF2, FANCL, GNA11, KDM5C, MSH6, PIK3CA, RPTOR, TBX3, ALK, BTK, CSF1R, FAS, GNA13, KDM6A, MTOR, PIK3CB, RUNX1, TERC, AMER1 (FAM123B), C11orf30 (EMSY), CTCF, FAT1, GNAQ, KDR, MUTYH, PIK3CG, RUNX1T1, TERT (только промотор), APC, CARD11, CTNNA1, FBXW7, GNAS, KEAP1, MYC, PIK3R1, SDHA, TET2, AR, CBF3, CTNNB1, FGF10, GPR124, KEL, MYCL (MYCL1), PIK3R2, SDHB, TGFB2, ARAF, CBL, CUL3, FGF14, GRIN2A, KIT, MYCN, PLCG2, SDHC, TNFAIP3, ARFRP1, CCND1, CYLD, FGF19, GRM3, KLHL6, MYD88, PMS2, SDHD, TNFRSF14, ARID1A, CCND2, DAXX, FGF23, GSK3B, KMT2A (MLL), NF1, POLD1, SETD2, TOP1, ARID1B, CCND3, DDR2, FGF3, H3F3A, KMT2C (MLL3), NF2, POLE, SF3B1, TOP2A, ARID2, CCNE1, DICER1, FGF4, HGF, KMT2D (MLL2), NFE2L2, PPP2R1A, SLIT2, TP53, ASXL1, CD274, DNMT3A, FGF6, HNF1A, KRAS, NFKBIA, PRDM1, SMAD2, TSC1, ATM, CD79A, DOT1L, FGFR1, HRAS, LMO1, NKX2-1, PREX2, SMAD3, TSC2, ATR, CD79B, EGFR, FGFR2, HSD3B1, LRP1B, NOTCH1, PRKAR1A, SMAD4, TSHR, ATRX, CDC73, EP300, FGFR3, HSP90AA1, LYN, NOTCH2, PRKCI, SMARCA4, U2AF1, AURKA, CDH1, EPHA3, FGFR4, IDH1, LZTR1, NOTCH3, PRKDC, SMARCB1, VEGFA, AURKB, CDK12, EPHA5, FH, IDH2, MAGI2, NPM1, PRSS8, SMO, VHL, AXIN1, CDK4, EPHA7, FLCN, IGF1R, MAP2K1, NRAS, PTCH1, SNCAIP, WISP3, AXL, CDK6, EPHB1, FLT1, IGF2, MAP2K2, NSD1, PTEN, SOCS1, WT1, BAP1, CDK8, ERBB2, FLT3, IKBKE, MAP2K4, NTRK1, PTPN11, SOX10, XPO1, BARD1, CDKN1A, ERBB3, FLT4, IKZF1, MAP3K1, NTRK2, QKI, SOX2, ZBTB2, BCL2, CDKN1B, ERBB4, FOXL2, IL7R, MCL1, NTRK3, RAC1, SOX9, ZNF217, BCL2L1, CDKN2A, ERG, FOXP1, INHBA, MDM2, NUP93, RAD50, SPEN, ZNF703, BCL2L2, CDKN2B, ERFF1, FRS2, INPP4B, MDM4, PAK3, RAD51, SPOP, BCL6, CDKN2C, ESR1, FUBP1, IRF2, MED12, PALB2, RAF1, SPTA1, BCOR, CEBPA, EZH2, GABRA6, IRF4, MEF2B, PARK2, RANBP2, SRC, BCORL1, CHD2, FAM46C, GATA1, IRS2, MEN1, PAX5, RARA, STAG2, BLM, CHD4, FANCA, GATA2, JAK1, MET, PBRM1, RB1, STAT3 и любой их комбинации.

Вариант осуществления 26.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-25, кроме того, включающий идентификацию геномного изменения в одном или более из ETV4, TMPRSS2, ETV5, BCR, ETV1, ETV6 и MYB.

Вариант осуществления 27.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-26, отличающийся тем, что субъект имеет опухоль с высокой неоантигенной нагрузкой.

Вариант осуществления 28.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-27, отличающийся тем, что субъект имеет увеличенный репертуар Т-клеток.

Вариант осуществления 29.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-28, отличающийся тем, что опухоль представляет собой рак легкого.

Вариант осуществления 30.

Способ по варианту осуществления 29, отличающийся тем, что рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC).

Вариант осуществления 31.

Способ по варианту осуществления 30, отличающийся тем, что NSCLC имеет плоскоклеточную гистологию.

Вариант осуществления 32.

Способ по варианту осуществления 30, отличающийся тем, что NSCLC имеет неплюскоклеточную гистологию.

Вариант осуществления 33.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-28, отличающийся тем, что опухоль выбрана из почечно-клеточной карциномы, рака яичника, колоректального рака, рака желудочно-кишечного тракта,

рака пищевода, рака мочевого пузыря, рака легкого и меланомы.

Вариант осуществления 34.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-33, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с человеческим PD-1.

Вариант осуществления 35.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-34, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб.

Вариант осуществления 36.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-35, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающую часть.

Вариант осуществления 37.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-36, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1 человека или изотипа IgG4 человека.

Вариант осуществления 38.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-37, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть представляет собой ниволумаб.

Вариант осуществления 39.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-37, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть представляет собой пембролизумаб.

Вариант осуществления 40.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-39, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе от 0,1 до 10,0 мг/кг массы тела один раз каждые 2, 3 или 4 недели.

Вариант осуществления 41.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-40, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 5 или 10 мг/кг массы тела один раз каждые 3 недели.

Вариант осуществления 42.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-41, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 5 мг/кг массы тела один раз каждые 3 недели.

Вариант осуществления 43.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-40, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 3 мг/кг массы тела один раз каждые 2 недели.

Вариант осуществления 44.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-39, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы.

Вариант осуществления 45.

Способ по варианту осуществления 44, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы, составляющей по меньшей мере около 200 мг, по меньшей мере около 220 мг, по меньшей мере около 240 мг, по меньшей мере около 260 мг, по меньшей мере около 280 мг, по меньшей мере около 300 мг, по меньшей мере около 320 мг, по меньшей мере около 340 мг, по меньшей мере около 360 мг, по меньшей мере около 380 мг, по меньшей мере около 400 мг, по меньшей мере около 420 мг, по меньшей мере около 440 мг, по меньшей мере около 460 мг, по меньшей мере около 480 мг, по меньшей мере около 500 мг или по меньшей мере около 550 мг.

Вариант осуществления 46.

Способ по варианту осуществления 44 или 45, отличающийся тем, что анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы приблизительно один раз каждые 1, 2, 3 или 4 недели.

Вариант осуществления 47.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-46, отличающийся тем, что субъект демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение по меньшей мере около одного месяца, по меньшей мере около 2 месяцев, по меньшей мере около 3 месяцев, по меньшей мере около 4 месяцев, по меньшей мере около 5 месяцев, по меньшей мере около 6 месяцев, по меньшей мере около 7 месяцев, по меньшей мере около 8 месяцев, по меньшей мере около 9 месяцев, по меньшей мере около 10 месяцев, по меньшей мере около 11 месяцев, по меньшей мере около одного года, по меньшей мере около восемнадцати месяцев, по меньшей мере около двух лет, по меньшей мере около трех лет, по меньшей мере около четырех лет или по меньшей мере около пяти лет после введения.

Вариант осуществления 48.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-47, отличающийся тем, что субъект демонстрирует общую выживаемость, составляющую по меньшей мере около одного месяца, по меньшей мере

около 2 месяцев, по меньшей мере около 3 месяцев, по меньшей мере около 4 месяцев, по меньшей мере около 5 месяцев, по меньшей мере около 6 месяцев, по меньшей мере около 7 месяцев, по меньшей мере около 8 месяцев, по меньшей мере около 9 месяцев, по меньшей мере около 10 месяцев, по меньшей мере около 11 месяцев, по меньшей мере около одного года, по меньшей мере около восемнадцати месяцев, по меньшей мере около двух лет, по меньшей мере около трех лет, по меньшей мере около четырех лет или по меньшей мере около пяти лет после введения.

Вариант осуществления 49.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-48, отличающийся тем, что субъект демонстрирует частоту объективных ответов, составляющую по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%.

Вариант осуществления 50.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-49, отличающийся тем, что опухоль имеет экспрессию PD-L1, составляющую по меньшей мере около 1%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45% или около 50%.

Вариант осуществления 51.

Способ идентификации субъекта, подходящего для терапии рака, включающий измерение статуса ТМВ образца опухоли от субъекта с использованием платформы, при этом статус ТМВ определяют путем секвенирования генов, связанных с развитием рака, и выбора интронов.

Вариант осуществления 52.

Способ по варианту осуществления 51, отличающийся тем, что терапия рака включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающей части, которое специфически связывается с рецептором программируемой смерти-1 (PD-1) и ингибирует активность PD-1 ("анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающая часть").

Вариант осуществления 53.

Способ по варианту осуществления 51 или 52, отличающийся тем, что опухоль выбрана из почечно-клеточной карциномы, рака яичника, колоректального рака, рака желудочно-кишечного тракта, рака пищевода, рака мочевого пузыря, рака легкого и меланомы.

Вариант осуществления 54.

Способ по любому из вариантов осуществления 1-53, отличающийся тем, что статус ТМВ измеряют с использованием теста FOUNDATIONONE®.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлена блок-схема представления распределения пациентов в исследовании (CONSORT diagram, Consolidated Standards of Reporting Trials, "Консолидированные стандарты отчетности об испытаниях").

На фиг. 2 показан дизайн исследования.

На фиг. 3 показана выживаемость без прогрессирования (PFS) у пациентов с экспрессией PD-L1, составляющей $\geq 5\%$.

На фиг. 4 показана выживаемость без прогрессирования (PFS) у всех рандомизированных пациентов.

На фиг. 5 показана общая выживаемость (OS) у пациентов с экспрессией PD-L1, составляющей $\geq 5\%$.

На фиг. 6 показана общая выживаемость (OS) у всех рандомизированных пациентов.

На фиг. 7 показана выживаемость без прогрессирования (PFS) у всех рандомизированных пациентов по подгруппам. ECOG PS обозначает Eastern Cooperative Oncology Group performance-status - общее состояние по пациента по шкале, разработанной Восточной онкологической группой.

На фиг. 8 показана общая выживаемость (OS) у всех рандомизированных пациентов по подгруппам. ECOG PS обозначает Eastern Cooperative Oncology Group performance-status - общее состояние по пациента по шкале, разработанной Восточной онкологической группой.

На фиг. 9 показана выживаемость без прогрессирования (PFS) у оцениваемых пациентов с высокой мутационной нагрузкой опухоли (ТМВ).

На фиг. 10 показана выживаемость без прогрессирования (PFS) у подлежащих оценке пациентов с низкой или средней мутационной нагрузкой опухоли (ТМВ).

На фиг. 11 показана общая выживаемость (OS) у подлежащих оценке пациентов с высокой мутационной нагрузкой опухоли (ТМВ).

На фиг. 12 показана общая выживаемость (OS) у подлежащих оценке пациентов с низкой или средней мутационной нагрузкой опухоли (ТМВ).

На фиг. 13 показан анализ опухолевой нагрузки с использованием общего количества экзомных мутаций и панели генов.

На фиг. 14 показана выживаемость без прогрессирования (PFS) у пациентов, оцениваемых на мутационную нагрузку опухоли (ТМВ).

На фиг. 15 показана общая выживаемость (OS) у пациентов, оцениваемых на мутационную нагрузку опухоли (TMB).

На фиг. 16 показана выживаемость без прогрессирования (PFS) в зависимости от тертиля мутационной нагрузки опухоли (TMB) в группе, получавшей ниволумаб.

На фиг. 17 показана выживаемость без прогрессирования (PFS) в зависимости от тертиля мутационной нагрузки опухоли (TMB) в группе, получавшей химиотерапию.

На фиг. 18 показан анализ связи между мутационной нагрузкой опухоли (TMB) и экспрессией PD-L1 у подлежащих оценке пациентов.

На фиг. 19 показана общая частота ответов (ORR) в зависимости от мутационной нагрузки опухоли (TMB) и экспрессии PD-L1.

На фиг. 20 показан частичный ответ (PR) и полный ответ (CR) в зависимости от мутационной нагрузки опухоли (TMB) у подлежащих оценке пациентов.

На фиг. 21 показан экспериментальный дизайн анализа мутационной нагрузки опухоли (TMB) в образцах, полученных от 44 пациентов. WES: полноэкзомное секвенирование; F1: секвенирование FOUNDATIONONE®.

На фиг. 22 показана высокая корреляция между мутационной нагрузкой опухоли (TMB) по данным секвенирования FOUNDATIONONE® (F1) и по данным полноэкзомного секвенирования (WES). Затененная область представляет границы 95%-ного конфлюэнтного интервала, рассчитанного с использованием метода бутстрэп (квантиль). Горизонтальная пунктирная линия показывает эквивалентный уровень F1 TMB (7,64 соматических мутаций на мегаоснование). Вертикальная пунктирная линия показывает произвольное значение WES TMB, принятое равным медиане (148 миссенс-мутаций).

На фиг. 23 представлена схема протокола клинического испытания, направленного на лечение SCLC с использованием анти-PD-1 антитела, например, ниволумаба, монотерапии или комбинированной терапии, содержащей анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб, и анти-CTLA-4 антитело, например, ипилимумаб.

На фиг. 24 показана схема, иллюстрирующая способы и схему обработки образцов для поискового анализа TMB.

Фиг. 25A-25D являются графическими изображениями выживаемости без прогрессирования (PFS; фиг. 25A и 25C) и общей выживаемости (OS; фиг. 25B и 25D) для субъектов, получавших лечение анти-PD-1 антителом, например, ниволумабом, монотерапией (фиг. 25A и 25B) или комбинированной терапией, включающей анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб, и анти-CTLA-4 антитело, например, ипилимумаб (фиг. 25C и 25D). PFS и OS для ИТТ пациентов и оцениваемых на TMB пациентов, перекрываются, как показано (фиг. 25A-25D).

Фиг. 26A-26C являются графическими изображениями распределения TMB для субъектов в описанном в настоящем документе клиническом исследовании, направленном на лечение SCLC (фиг. 26A), пула субъектов в исследовании, направленном на лечение SCLC (фиг. 26B) и пула субъектов из предыдущего клинического испытания, направленного на лечение немелкоклеточного рака легкого (фиг. 26C).

Фиг. 27 представляет собой столбчатую диаграмму, показывающую общую частоту ответа (ORR) для всех оцениваемых на TMB субъектов, получавших лечение анти-PD-1 антителом, например, ниволумабом, или анти-PD-1 антителом, например, ниволумабом и анти-CTLA-4 антителом, например, ипилимумабом и для тех же субъектов, стратифицированных по статусу TMB (низкая, средняя или высокая).

На фиг. 28A-28B представлены графические изображения распределения TMB для субъектов, получавших лечение либо анти-PD-1 антителом, например, монотерапией ниволумабом (фиг. 28A), либо комбинированной терапией, включающей анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб и анти-CTLA-4 антитело, например, ипилимумаб (фиг. 28B), при этом субъекты стратифицированы по наилучшему общему ответу. CR = полный ответ; PR = частичный ответ; SD = стабильное заболевание; PD = прогрессирующее заболевание; NE = не оценивается.

На фиг. 29A-29B показана выживаемость без прогрессирования (PFS) у субъектов, получавших лечение анти-PD-1 антителом, например, ниволумабом, монотерапией (фиг. 29A) или комбинированной терапией, включающей анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб, и анти-CTLA-4 антитело, например, ипилимумаб (фиг. 29B), стратифицированных по статусу TMB (низкая, средняя или высокая), как указано. Для каждой отобранной группы наблюдается выживаемость без прогрессирования (PFS) в течение одного года.

На фиг. 30A-30B показана общая выживаемость (OS) для субъектов, получавших лечение анти-PD-1 антителом, например, монотерапией ниволумабом (фиг. 30A) или комбинированной терапией, включающей анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб и анти-CTLA-4 антитело, например, ипилимумаб (фиг. 30B), стратифицированных по статусу TMB (низкая, средняя или высокая), как указано. Для каждой отобранной группы наблюдается общая выживаемость (OS) в течение одного года.

На фиг. 31 показан дизайн исследования, направленного на лечение NSCLC. Субъектов распределяли по статусу экспрессии PD-L1, т.е. $\geq 1\%$ экспрессии PD-L1 против $<$ экспрессии PD-L1. Затем субъектов в каждой группе распределяли по трем группам (1:1:1), получающим (i) анти-PD-1 антитело (напри-

мер, ниволумаб) в дозе 3 мг/кг q2Q и анти-CTLA-4 антитело, например, ипилимумаб, в дозе 1 мг/кг q6W (n = 396 или n = 187); (ii) химиотерапию в зависимости от гистологии (n = 397 или n = 186) и (iii) анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб, отдельно в постоянной дозе 240 мг q2W (n = 396 или n = 177). Субъектов, которые получали химиотерапию в зависимости от гистологии, дополнительно стратифицировали по ее статусу, т.е. плоскоклеточный (SQ) NSCLC или неплоскоклеточный (NSQ) NSCLC. Субъекты с NSQ NSCLC, которые проходили химиотерапии, получали пеметрексед (500 мг/м²) + цисплатин (75 мг/м²) или карбоплатин (AUC 5 или 6), Q3W в течение ≤4 циклов, с необязательной поддерживающей терапией после химиотерапии пеметрекседом (500 мг/м²) или поддерживающей терапией комбинацией ниволумаб (360 мг Q3W) + пеметрексед (500 мг/м²) после ниволумаба + химиотерапии. Субъекты с SQ NSCLC, которые проходили химиотерапию, получали гемцитабин (1000 или 1250 мг/м²) + цисплатин (75 мг/м²), или гемцитабин (1000 мг/м²) + карбоплатин (AUC 5), Q3W в течение ≤4 циклов. Со-первичный анализ ТМВ проводили в подгруппе пациентов, рандомизированных на получение ниволумаба + ипилимумаба или химиотерапии, которые имели оцениваемую ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб.

На фиг. 32 показана диаграмма рассеяния ТМВ и экспрессии PD-L1 у всех оцениваемых на ТМВ пациентов. По оси Y показано количество мутаций на мегабазу, и по оси X показана экспрессия PD-L1. Символы (точки) на диаграмме рассеяния могут представлять множество точек данных, особенно для пациентов с экспрессией PD-L1

На фиг. 33А показана выживаемость без прогрессирования при лечении анти-PD-1 антителом (например, ниволумабом) и анти-CTLA-4 антителом (например, ипилимумабом) по сравнению с химиотерапией у всех рандомизированных пациентов. CI обозначает доверительный интервал; HR обозначает отношение рисков. На фиг. 33В показана выживаемость без прогрессирования при лечении анти-PD-1 антителом (например, ниволумабом) и анти-CTLA-4 антителом (например, ипилимумабом) по сравнению с химиотерапией у оцениваемых на ТМВ пациентов.

На фиг. 34А показана выживаемость без прогрессирования при лечении анти-PD-1 антителом (например, ниволумабом) и анти-CTLA-4 антителом (например, ипилимумабом) (Nivo + Ipi) по сравнению с химиотерапией (Chemo) у пациентов с ТМВ ≥10 мутаций/Мб. 1-год PFS = выживаемость без прогрессирования в течение одного года; *95% CI, от 0,43 до 0,77. На фиг. 34В показана длительность ответа на лечение анти-PD-1 антителом (например, ниволумабом) и анти-CTLA-4 антителом (например, ипилимумабом) (Nivo + Ipi) по сравнению с химиотерапией (Chemo) у пациентов с ТМВ ≥10 мутаций/Мб. DOR: длительность ответа; медиана, DOR, мес.: медиана месяцев длительности ответа; 1 год DOR: длительность ответа в течение одного года.

На фиг. 35 показана выживаемость без прогрессирования при лечении анти-PD-1 антителом (например, ниволумабом) и анти-CTLA-4 антителом (например, ипилимумабом) по сравнению с химиотерапией у пациентов с ТМВ <10 мутаций/Мб.

На фиг. 36А показаны анализы по подгруппам выживаемости без прогрессирования у пациентов с ТМВ ≥10 мутаций/Мб при экспрессии PD-L1 ≥ 1%. PFS (%): процент выживаемости без прогрессирования. На фиг. 36В показан анализ по подгруппам выживаемости без прогрессирования у пациентов с ТМВ ≥10 мутаций/Мб при экспрессии PD-L1 <1%. На фиг. 36С показан анализ по подгруппам выживаемости без прогрессирования у пациентов с ТМВ ≥10 мутаций/Мб и гистологией плоскоклеточной опухоли. На фиг. 36Д показаны анализы по подгруппам выживаемости без прогрессирования у пациентов с ТМВ ≥10 мутаций/Мб и гистологией неплоскоклеточной опухоли. На фиг. 36Е показаны характеристики выбранных подгрупп.

На фиг. 37 показана выживаемость без прогрессирования при лечении монотерапией анти-PD-1 антителом (например, ниволумабом) по сравнению с химиотерапией у пациентов с ТМВ ≥13 мутаций/Мб и экспрессией PD-L1 в опухоли ≥1%. 95%-ный CI составляет 0,95 (0,64, 1,4).

На фиг. 38 показана выживаемость без прогрессирования при лечении анти-PD-1 антителом (например, ниволумабом) и анти-CTLA-4 антителом (например, ипилимумабом) по сравнению с монотерапией анти-PD-1 антителом (например, ниволумабом) и химиотерапией у пациентов с ТМВ ≥10 мутаций/Мб и экспрессией PD-L1 в опухоли ≥1%. 95%-ный CI составляет 0,62 (0,44, 0,88) для ниволумаба + ипилимумаба по сравнению с химиотерапией.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способам лечения больного раком пациента с опухолью, имеющей статус высокой ТМВ, включающим проведение у пациента иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенных вариантах осуществления иммунотерапия включает анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть, либо анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающую часть. Настоящее изобретение относится также к способу идентификации больного раком пациента, подходящего для иммунотерапевтического лечения, например, лечения анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью, включающему измерение статуса ТМВ биологического образца от пациента.

Термины

Для того, чтобы настоящее изобретение можно было бы легче понять, сначала определяются неко-

торые термины. Как используется в данной заявке, если иного не оговорено в настоящем документе, каждый из следующих терминов должен пониматься в значении, указанном ниже. Дополнительные определения приведены по тексту всей заявки.

"Введение" относится к физическому введению субъекту композиции, содержащей терапевтический агент, с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Предпочтительные пути введения для иммунотерапии, например, анти-PD-1 антителом или анти-PD-L1 антителом, включают внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, путем инъекции или инфузии. Выражение "парентеральное введение", используемое в настоящем документе, означает режимы введения, отличные от энтерального и местного введения, как правило, путем инъекции, и включает, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутримембранную, внутриочаговую, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и внутригрудную инъекцию и инфузию, а также *in vivo* электропорацию. Другие непарентеральные пути включают пероральный, местный, эпидермальный или мукозальный путь введения, например, интраназально, вагинально, ректально, сублингвально или местно. Введение может быть также выполнено, например, один раз, множество раз и/или в течение одного или более длительных периодов времени.

"Неблагоприятное событие" (АЕ), как использовано в настоящем документе, означает любой неблагоприятный и обычно непредвиденный или нежелательный признак (включая отклоняющиеся от нормы лабораторных показатели), симптом или заболевание, связанное с применением терапевтического лечения. Например, неблагоприятное событие может быть связано с активацией иммунной системы или экспансией клеток иммунной системы (например, Т-клеток) в ответ на лечение. Медицинское лечение может иметь одно или несколько связанных неблагоприятных событий, и каждое неблагоприятное событие может иметь один и тот же или различный уровень тяжести. Ссылка на способы, способные "изменять неблагоприятные события", означает схему лечения, которая уменьшает частоту и/или тяжесть одного или нескольких неблагоприятных событий (АЕ), ассоциированных с применением другой схемы лечения.

Термин "антитело" (Ab) включает, без ограничения, гликопротеиновый иммуноглобулин, который специфически связывается с антигеном и содержит по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные между собой дисульфидными связями, или его антигенсвязывающую часть. Каждая H-цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно называемую в настоящем документе как V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех константных доменов, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно называемую в настоящем документе как V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один константный домен, C_L . Области V_H и V_L могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями хозяина или факторами, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента.

Имуноглобулин может происходить из любого из широко известных изотипов, включая, но без ограничения, IgA, секреторный IgA, IgG и IgM. Подклассы IgG также хорошо известны специалистам в данной области и включают, но без ограничения, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека. "Изотип" относится к классу или подклассу антитела (например, IgM или IgG1), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. Термин "антитело" включает, в качестве примера, как природные, так и не встречающиеся в природе антитела; моноклональные и поликлональные антитела; химерные и гуманизированные антитела; человеческие или нечеловеческие антитела; полностью синтетические антитела; и одноцепочечные антитела. Нечеловеческое антитело может быть гуманизировано рекомбинантными способами для уменьшения его иммуногенности у человека. Там, где не указано, и если из контекста не следует иное, термин "антитело" также включает антигенсвязывающий фрагмент или антигенсвязывающую часть любого из вышеупомянутых иммуноглобулинов, и включает моновалентный и двухвалентный фрагмент или часть, и одноцепочечное антитело.

"Выделенное антитело" относится к антителу, которое по существу не содержит других антител, имеющих отличающиеся антигенные специфичности (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с PD-1, является, по существу, свободным от антител, которые специфически связывают антигены, отличные от PD-1). Однако выделенное антитело, которое специфически связывает PD-1, может иметь перекрестную реактивность с другими антигенами, такими как молекулы PD-1 из других видов. Более того, выделенное антитело может быть по существу свободным от другого клеточ-

ного материала и/или химических веществ.

Термин "моноклональное антитело" (mAb) относится к не встречающемуся в природе препарату молекул антител единого молекулярного состава, то есть молекул антител, чьи первичные последовательности являются по существу идентичными, и который проявляет единственную специфичность связывания и аффинность в отношении конкретного эпитопа. Моноклональное антитело является примером выделенного антитела. Моноклональные антитела могут быть получены гибридомными, рекомбинантными, трансгенными или другими способами, известными специалистам в данной области.

Термин "человеческое антитело" (HuMAb) относится к антителу, имеющему вариабельные области, в которых как каркасные, так и CDR-области получены из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Кроме того, если антитело содержит константную область, то константная область также получена из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Человеческие антитела по изобретению могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или путем соматической мутации *in vivo*). Однако, термин "человеческое антитело", используемый в настоящем документе, не предназначен для включения антител, в которых CDR-последовательности, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мышь, были привиты на каркасные последовательности человека. Термины "человеческое антитело" и "полностью человеческое антитело" используются в качестве синонимов.

"Гуманизованное антитело" относится к антителу, в котором некоторые, большинство или все аминокислоты вне CDR-областей нечеловеческого антитела замещены соответствующими аминокислотами, происходящими из человеческих иммуноглобулинов. В одном из вариантов осуществления гуманизованной формы антитела некоторые, большинство или все аминокислоты вне CDR-областей замещены аминокислотами из иммуноглобулинов человека, в то время как некоторые, большинство или все аминокислоты в одной или более CDR-областей остаются неизменными. Небольшие добавления, делеции, вставки, замены или модификации аминокислот допустимы до тех пор, пока они не аннулируют способность антитела связываться с конкретным антигеном. "Гуманизованное антитело" сохраняет антигенную специфичность, аналогичную таковой исходного антитела.

"Химерное антитело" относится к антителу, в котором вариабельные области получены из одного вида и константные области получены из другого вида, например, антитело, в котором вариабельные области получены из мышиного антитела и константные области получены из человеческого антитела.

"Анти-антиген антитело" относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном. Например, анти-PD-1 антитело специфически связывается с PD-1.

Термин "антигенсвязывающая часть" антитела (также называемая "антигенсвязывающий фрагмент") относится к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, связывающимся целым антителом.

"Рак" относится к обширной группе различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. Нерегулируемое деление и рост клеток приводит к образованию злокачественных опухолей, которые вторгаются в соседние ткани, а также могут метастазировать в отдаленные части тела через лимфатическую систему или кровоток.

Термин "иммунотерапия" относится к лечению субъекта, пораженного заболеванием или имеющего риск заражения или страдающего рецидивом заболевания, способом, включающим индуцирование, усиление, подавление или иным образом модифицирование иммунного ответа. "Лечение" или "терапия" субъекта относится к любому типу выполняемого вмешательства или процесса, или введения активного агента субъекту с целью обращения вспять, облегчения, ослабления, ингибирования, замедления или предупреждения возникновения, прогрессирования, развития, тяжести или рецидива симптома, осложнения или состояния, или биохимических показателей, связанных с заболеванием.

Термин "программируемая смерть-1 (PD-1)" относится к рецептору, ингибирующему иммунную систему, принадлежащему к семейству CD28. PD-1 экспрессируется преимущественно на ранее активированных Т-клетках *in vivo* и связывается с двумя лигандами, PD-L1 и PD-L2. Используемый в настоящем документе термин "PD-1" включает человеческий PD-1 (hPD-1), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-1, и его аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-1. Полная последовательность hPD-1 может быть найдена под номером доступа GenBank Accession No. U64863.

"Лиганд-1 программируемой смерти (PD-L1)" является одним из двух присутствующих на клеточной поверхности гликопротеиновых лигандов для PD-1 (другой представляет собой PD-L2), который понижающе регулирует активацию Т-клеток и секрецию цитокинов после связывании с PD-1. Используемый в настоящем документе термин "PD-L1" включает человеческий PD-L1 (hPD-L1), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-L1 и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L1. Полная последовательность hPD-L1 может быть найдена под номером доступа GenBank Accession No. Q9NZQ7.

"Субъект" включает человека или любое животное, отличное от человека. Термин "животное, отличное от человека" включает, но без ограничения, позвоночных, таких как нечеловеческие приматы, овцы, собаки, и грызунов, таких как мыши, крысы и морские свинки. В предпочтительных вариантах

осуществления субъектом является человек. Термины "субъект" и "пациент" используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

Использование термина "постоянная доза" в отношении способов и доз изобретения означает дозу, вводимую пациенту вне зависимости от веса или площади поверхности тела (BSA) пациента. Таким образом, постоянная доза представлена не в виде дозы мг/кг, а в виде абсолютного количества агента (например, анти-PD-1 антитела). Например, человек весом 60 кг и человек весом 100 кг будут получать одинаковую дозу антитела (например, 240 мг анти-PD-1 антитела).

Использование термина "постоянная доза" в отношении способа по изобретению означает, что два или более антител в единой композиции (например, анти-PD-1 антитело и анти-CTLA-4 антитело) присутствуют в этой композиции в определенных (фиксированных) соотношениях. В некоторых вариантах осуществления постоянная доза основана на весе (например, мг) антител. В некоторых вариантах осуществления постоянная доза основана на концентрации (например, мг/мл) антител. В некоторых вариантах осуществления соотношение составляет по меньшей мере около 1:1, около 1:2, около 1:3, около 1:4, около 1:5, около 1:6, около 1:7, около 1:8, около 1:9, около 1:10, около 1:15, около 1:20, около 1:30, около 1:40, около 1:50, около 1:50, около 1:60, около 1:70, около 1:80, около 1:90, около 1:100, около 1:120, около 1:140, около 1:160, около 1:180, около 1:200, около 200:1, около 180:1, около 160:1, около 140:1, около 120:1, около 100:1, около 90:1, около 80:1, около 70:1, около 60:1, около 50:1, около 40:1, около 30:1, около 20:1, около 15:1, около 10:1, около 9:1, около 8:1, около 7:1, около 6:1, около 5:1, около 4:1, около 3:1 или приблизительно 2:1 мг первого антитела (например, анти-PD-1 антитела) на мг второго антитела (например, анти-CTLA-4 антитела). Например, соотношение 3:1 анти-PD-1 антитела и анти-CTLA-4 антитела может означать, что флакон может содержать около 240 мг анти-PD-1 антитела и 80 мг анти-CTLA-4 антитела, или около 3 мг/мл анти-PD-1 антитела и 1 мг/мл анти-CTLA-4 антитела.

Термин "доза на основании веса", как упоминается в настоящем документе, означает, что доза, вводимая пациенту, рассчитывается на основании веса пациента. Например, когда пациенту весом 60 кг требуется 3 мг/кг анти-PD-1 антитела, можно рассчитать и использовать для введения подходящее количество анти-PD-1 антитела (то есть 180 мг).

"Терапевтически эффективное количество" или "терапевтически эффективная доза" лекарственного средства или терапевтического агента представляет собой любое количество лекарственного средства, которое при использовании отдельно или в комбинации с другим терапевтическим агентом защищает субъекта от возникновения заболевания или способствует регрессии заболевания, что подтверждается уменьшением выраженности симптомов заболевания, увеличением частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания, или предотвращением ухудшения или инвалидности вследствие заболевания. Способность терапевтического агента содействовать регрессии заболевания может быть оценена с использованием различных способов, известных специалисту в данной области, например, у людей в ходе клинических испытаний, в животных модельных системах, прогнозирующих эффективность в организме человека, или путем анализа активности данного агента в анализах *in vitro*.

В качестве примера, "противораковый агент" способствует регрессии рака у субъекта. В предпочтительных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество лекарственного средства способствует регрессии рака до точки устранения рака. "Содействие регрессии рака" означает, что введение эффективного количества лекарственного средства, отдельно или в комбинации с противоопухолевым агентом, приводит к снижению роста или размера опухоли, некрозу опухоли, уменьшению тяжести по меньшей мере одного симптома заболевания, увеличению частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания или предотвращению ухудшения или инвалидности вследствие недуга заболевания. Кроме того, термины "эффективный" и "эффективность" в отношении лечения включают как фармакологическую эффективность, так и физиологическую безопасность. Фармакологическая эффективность относится к способности лекарственного средства содействовать регрессии рака у пациента. Физиологическая безопасность относится к уровню токсичности или других нежелательных физиологических эффектов на клеточном уровне, на уровне органа и/или организма (неблагоприятные события) в результате введения лекарственного средства.

В качестве примера для лечения опухолей, терапевтически эффективное количество противоракового агента может ингибировать рост клеток или рост опухоли по меньшей мере на около 20%, более предпочтительно по меньшей мере на около 40%, еще более предпочтительно по меньшей мере на около 60% и еще более предпочтительно по меньшей мере на около 80% по сравнению с субъектами, не получавшими лечение. В других предпочтительных вариантах осуществления изобретения регрессия опухоли может наблюдаться и продолжаться в течение периода, составляющего по меньшей мере около 20 дней, более предпочтительно по меньшей мере около 40 дней или даже более предпочтительно по меньшей мере около 60 дней. Несмотря на такие окончательные измерения терапевтической эффективности, оценка препаратов иммунотерапии также должна делать поправку паттерны "иммунозависимого" ответа.

"Иммунный ответ" является таким, как понимается в данной области, и в целом относится к биологическому ответу у позвоночного на чужеродные агенты или аномальные, например, злокачественные клетки, при этом ответ защищает организм от этих агентов и вызываемых ими заболеваний. Иммунный ответ опосредуется действием одной или более клеток иммунной системы (например, Т-лимфоцита, В-

лимфоцита, естественной клетки-киллера (NK), макрофага, эозинофила, тучной клетки, дендритной клетки или нейтрофила) и растворимых макромолекул, продуцируемых любой из этих клеток или печенью (включая антитела, цитокины и комплемент), что приводит к селективному направленному воздействию, связыванию с инвазивными патогенами, клетками или тканями, инфицированными патогенами, злокачественными или другими аномальными клетками, их повреждению, разрушению и/или выведению из организма позвоночного, или, в случаях аутоиммунных заболеваний или патологического воспаления, нормальных человеческих клеток или тканей. Иммунный ответ включает, например, активацию или ингибирование Т-клетки, например, эффекторной Т-клетки, клетки Th, CD4+-Т-клетки, CD8+-Т-клетки или Treg-клетки, или активацию или ингибирование любой другой клетки иммунной системы, например, NK-клетки.

"Паттерн иммунозависимого ответа" относится к клинической картине ответа, часто наблюдаемой у онкологических пациентов, получавших иммунотерапевтические препараты, которые оказывают противоопухолевое действие путем индукции специфических по отношению к раку иммунных ответов или путем модификации нативных иммунных процессов. Паттерн такого ответа характеризуется благоприятным терапевтическим эффектом, который следует за первоначальным увеличением опухолевой массы или появлением новых поражений, что, при оценке традиционных химиотерапевтических средств, классифицировалось бы как прогрессирование заболевания и было бы синонимом неэффективности лекарственного средства. Соответственно, надлежащая оценка иммунотерапевтических агентов может потребовать долгосрочного мониторинга воздействия данных агентов на целевое заболевание.

Термин "иммуномодулятор" или "иммунорегулятор" относится к агенту, например, агенту, нацеленному на компонент сигнального пути, который может быть вовлечен в модулирование, регулирование или модифицирование иммунного ответа. "Модулирование", "регулирование" или "модифицирование" иммунного ответа относится к любому изменению в клетке иммунной системы или в активности такой клетки (например, эффекторной Т-клетки, такой как клетка Th1). Такое модулирование включает стимуляцию или супрессию иммунной системы, которая может проявляться увеличением или уменьшением числа различных типов клеток, увеличением или уменьшением активности этих клеток или любых других изменений, которые могут произойти в иммунной системе. Были идентифицированы как ингибирующие, так и стимулирующие иммуномодуляторы, некоторые из которых, возможно, характеризуются улучшенной функцией в микроокружении опухоли. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулятор нацелен на молекулу на поверхности Т-клетки. "Иммуномодулирующая мишень" или "иммунорегулирующая мишень" представляет собой молекулу, например, молекулу клеточной поверхности, которая является мишенью для связывания и активность которой изменяется в результате связывания вещества, агента, фрагмента, соединения или молекулы. Иммуномодулирующие мишени включают, например, рецепторы на поверхности клетки ("иммуномодулирующие рецепторы") и лиганды рецепторов ("иммуномодулирующие лиганды").

"Иммунотерапия" относится к лечению субъекта, пораженного или имеющего риск заражения заболеванием, или испытания повторения заболевания, с помощью способа, включающего индукцию, усиление, подавление или иную модификацию иммунной системы или иммунного ответа. В определенных вариантах осуществления иммунотерапия включает введение антитела субъекту. В других вариантах осуществления иммунотерапия включает введение малой молекулы субъекту. В других вариантах осуществления иммунотерапия включает введение цитокина или его аналога, варианта или фрагмента.

"Иммуностимулирующая терапия" или "иммуностимуляторная терапия" относится к терапии, которая приводит к увеличению (индукции или усилению) иммунного ответа у субъекта, например, для лечения рака.

"Потенцирование эндогенного иммунного ответа" означает повышение эффективности или активности существующего иммунного ответа у субъекта. Это увеличение эффективности и активности может быть достигнуто, например, путем преодоления механизмов, которые подавляют эндогенный иммунный ответ хозяина, или с помощью стимулирующих механизмов, которые повышают эндогенный иммунный ответ хозяина.

Терапевтически эффективное количество лекарственного средства включает "профилактически эффективное количество", которое представляет собой любое количество лекарственного средства, которое при введении отдельно или в комбинации с противоопухолевым агентом субъекту, имеющему риск развития рака (например, субъекту, имеющему предраковое состояние) или страдающему рецидивом рака, тормозит развитие или рецидив рака. В предпочтительных вариантах осуществления профилактически эффективное количество предотвращает развитие или рецидив рака. "Ингибирование" развития или рецидива рака означает либо уменьшение вероятности развития или рецидива рака, либо полное предупреждение развития или рецидива рака.

Используемый в настоящем документе термин "мутационная нагрузка опухоли" (ТМВ) относится к количеству соматических мутаций в геноме опухоли и/или количеству соматических мутаций на участок генома опухоли. Варианты зародышевой линии (унаследованные) исключаются при определении ТМВ, так как иммунная система имеет более высокую вероятность распознавать их как собственные. Выражение "tumor mutation burden (мутационная нагрузка опухоли)" (ТМВ) можно также использовать взаимно-

заменяемо с выражением "tumor mutation load (мутационная нагрузка опухоли)", "tumor mutational burden (мутационная нагрузка опухоли)" или "tumor mutational load (мутационная нагрузка опухоли)".

Мутационная нагрузка опухоли (ТМВ) относится к генетическому анализу генома опухоли и, таким образом, может быть измерена путем применения способов секвенирования, хорошо известных специалистам в данной области. ДНК опухоли можно сравнить с ДНК из нормальной ткани подобранных пациентов для устранения мутаций или полиморфизмов зародышевой линии.

В некоторых вариантах осуществления ТМВ определяют путем секвенирования ДНК опухоли с использованием высокопроизводительного метода секвенирования, например, секвенирования следующего поколения (NGS) или способа на основе NGS. В некоторых вариантах осуществления способ на основе NGS выбран из полногеномного секвенирования (WGS), полноэкзомного секвенирования (WES) или комплексного геномного профилирования (CGP) панелей генов рака, например, клинические тесты FOUNDATIONONE® CDX™ и MSK-IMPACT. В некоторых вариантах осуществления ТМВ, как используется в настоящем документе, относится к количеству соматических мутаций на мегабазу (Mb) секвенированной ДНК. В одном варианте осуществления ТМВ измеряют с использованием общего количества несинонимических мутаций, например, миссенс-мутации (то есть изменения конкретной аминокислоты в белке) и/или нонсенс-мутации (вызывающей преждевременную терминацию и, таким образом, усечение последовательности белка), идентифицированных путем нормализации подобранной опухоли с образцами зародышевой линии, чтобы исключить любые наследственные генетические изменения зародышевой линии. В другом варианте осуществления ТМВ измеряют с использованием общего количества миссенс-мутаций в опухоли. Для измерения ТМВ требуется достаточное количество образца. В одном варианте осуществления для измерения используют образец ткани (например, минимум 10 препаратов). В некоторых вариантах осуществления ТМВ представлена в виде NsM на мегабазу (NsM/Mb). 1 мегабаза представляет 1 миллион оснований.

Статус ТМВ может представлять собой числовое значение или относительную величину, например, высокая, средняя или низкая; в пределах самого высокого квантиля или в пределах верхнего тертиля эталонного набора.

Используемый в настоящем документе термин "высокая ТМВ" относится к количеству соматических мутаций в геноме опухоли, превышающее количество соматических мутаций, которое является нормальным или средним. В некоторых вариантах осуществления ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 210, по меньшей мере 215, по меньшей мере 220, по меньшей мере 225, по меньшей мере 230, по меньшей мере 235, по меньшей мере 240, по меньшей мере 245, по меньшей мере 250, по меньшей мере 255, по меньшей мере 260, по меньшей мере 265, по меньшей мере 270, по меньшей мере 275, по меньшей мере 280, по меньшей мере 285, по меньшей мере 290, по меньшей мере 295, по меньшей мере 300, по меньшей мере 305, по меньшей мере 310, по меньшей мере 315, по меньшей мере 320, по меньшей мере 325, по меньшей мере 330, по меньшей мере 335, по меньшей мере 340, по меньшей мере 345, по меньшей мере 350, по меньшей мере 355, по меньшей мере 360, по меньшей мере 365, по меньшей мере 370, по меньшей мере 375, по меньшей мере 380, по меньшей мере 385, по меньшей мере 390, по меньшей мере 395, по меньшей мере 400, по меньшей мере 405, по меньшей мере 410, по меньшей мере 415, по меньшей мере 420, по меньшей мере 425, по меньшей мере 430, по меньшей мере 435, по меньшей мере 440, по меньшей мере 445, по меньшей мере 450, по меньшей мере 455, по меньшей мере 460, по меньшей мере 465, по меньшей мере 470, по меньшей мере 475, по меньшей мере 480, по меньшей мере 485, по меньшей мере 490, по меньшей мере 495 или по меньшей мере 500; в других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 221, по меньшей мере 222, по меньшей мере 223, по меньшей мере 224, по меньшей мере 225, по меньшей мере 226, по меньшей мере 227, по меньшей мере 228, по меньшей мере 229, по меньшей мере 230, по меньшей мере 231, по меньшей мере 232, по меньшей мере 233, по меньшей мере 234, по меньшей мере 235, по меньшей мере 236, по меньшей мере 237, по меньшей мере 238, по меньшей мере 239, по меньшей мере 239, по меньшей мере 240, по меньшей мере 241, по меньшей мере 242, по меньшей мере 243, по меньшей мере 244, по меньшей мере 245, по меньшей мере 246, по меньшей мере 247, по меньшей мере 248, по меньшей мере 249 или по меньшей мере 250; и, в конкретном варианте осуществления, высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 243. В других вариантах осуществления "высокая ТМВ" относится к ТМВ в пределах самого высокого квантиля эталонного значения ТМВ. Например, всех субъектов с поддающимися оценке данными по ТМВ группировали в соответствии с распределением квантиля ТМВ, то есть субъектов распределяли в порядке от самого высокого до самого низкого количества генетических изменений и разделяли на определенное количество групп. В одном варианте осуществления всех субъектов с поддающимися оценке данными по ТМВ распределяли и разделяли на три части, и "высокая ТМВ" находится в верхнем тертиле эталонного значения ТМВ. В конкретном варианте осуществления границы тертиля представляют собой 0<100 генетических изменений; от 100 до 243 генетических изменений; и >243 генетических изменений. Следует понимать, что после распределения субъекты с поддающимися оценке данными по ТМВ могут быть разделены на любое количество групп, например квантили, квинтили и т.д. В некоторых вариантах осуществления "высокая ТМВ" относится к ТМВ, составляющей по меньшей

мере около 20 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 25 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 30 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 35 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 40 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 45 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 50 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 55 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 60 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 65 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 70 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 75 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 80 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 85 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 90 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 95 мутаций/опухоль или по меньшей мере около 100 мутаций/опухоль. В некоторых вариантах осуществления "высокая ТМВ" относится к ТМВ, составляющей по меньшей мере около 105 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 110 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 115 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 120 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 125 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 130 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 135 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 140 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 145 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 150 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 175 мутаций/опухоль или по меньшей мере около 200 мутаций/опухоль. В определенных вариантах осуществления опухоль, имеющая высокую ТМВ, имеет по меньшей мере около 100 мутаций/опухоль.

"Высокая ТМВ" может также упоминаться как количество мутаций на мегабазу секвенированного генома, например, измеренное с помощью мутационного анализа, например, теста FOUNDATIONONE® CDX™. В одном варианте осуществления высокая ТМВ относится к по меньшей мере около 9, по меньшей мере около 10, по меньшей мере около 11, по меньшей мере около 12, по меньшей мере около 13, по меньшей мере около 14, по меньшей мере около 15, по меньшей мере около 16, по меньшей мере около 17, по меньшей мере около 18, по меньшей мере около 19 или по меньшей мере около 20 мутациям на мегабазу генома, по данным измерения с помощью теста FOUNDATIONONE® CDX™. В конкретном варианте осуществления термин "высокая ТМВ" относится по меньшей мере к 10 мутациям на мегабазу генома, секвенированного с помощью теста FOUNDATIONONE® CDX™.

Используемый в настоящем документе термин "средняя ТМВ" относится к количеству соматических мутаций в геноме опухоли, которое равно или приблизительно равно количеству соматических мутаций, которое является нормальным или средним, и термин "низкая ТМВ" относится к количеству соматических мутаций в геноме опухоли, которое меньше количества соматических мутаций, которое является нормальным или средним. В конкретном варианте осуществления "высокая ТМВ" имеет балл, равный по меньшей мере 243, "средняя ТМВ" имеет балл в диапазоне от 100 до 242, и "низкая ТМВ" имеет балл, равный меньше 100 (или от 0 до 100). "Средняя или низкая ТМВ" относится к менее чем 9 мутациям на мегабазу секвенированного генома, например, по данным измерения с помощью теста FOUNDATIONONE® CDX™.

Термин "эталонное значение ТМВ", как упоминается в настоящем документе, может представлять собой значение ТМВ, показанное в табл. 9.

В некоторых вариантах осуществления статус ТМВ может коррелировать со статусом курения. В частности, субъекты, которые курят на текущий момент или являются бывшими курильщиками, часто имеют больше генетических изменений, например, миссенс-мутаций, чем субъекты, которые никогда не курят (курили).

Опухоль с высокой ТМВ может также иметь высокую неоантигенную нагрузку. Используемый в настоящем документе термин "неоантиген" относится к вновь образованному антигену, который ранее не распознавался иммунной системой. Неоантиген может представлять собой белок или пептид, который иммунная система распознает как чужеродный (или не свой). Транскрипция гена в геноме опухоли, несущем соматическую мутацию, приводит к образованию мутированной мРНК, которая при трансляции вызывает образование мутированного белка, который затем процессируется и транспортируется в просвет ER и связывается с комплексом МНС класса I, способствуя распознаванию Т-клетками неоантигена. Распознавание неоантигена может способствовать активации Т-клеток, клональной экспансии и дифференцировке в эффекторные Т-клетки и Т-клетки памяти. Неоантигенная нагрузка может коррелировать с ТМВ. В некоторых вариантах осуществления ТМВ оценивают в качестве биомаркера для измерения неоантигенной нагрузки опухоли. Статус ТМВ опухоли можно использовать в качестве фактора, отдельно или в сочетании с другими факторами, для определения вероятности получения пациентом благоприятного эффекта от конкретного противоракового агента или типа лечения или терапии, например, иммуноонкологических агентов, например, анти-PD-1 антитела или его антигенсвязывающей части, или анти-PD-L1 антитела или его антигенсвязывающей части. В одном варианте осуществления статус высокой ТМВ (или высокая ТМВ) указывает на повышенную вероятность получения благоприятного эффекта от иммуноонкологии и, таким образом, может быть использован для выявления пациентов, которые с большей долей вероятности будут получать благоприятный эффект от терапии анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью. Аналогично, опухоли с высокой неоантигенной нагрузкой опухоли и высокой ТМВ с большей вероятностью будут иммуногенными, чем опухоли с низкой неоантигенной нагрузкой и низкой ТМВ. Кроме того, опухоли с высокой неоантигенной нагрузкой/высокой ТМВ с

большей вероятностью будут распознаваться иммунной системой как не свои, таким образом, вызывая иммуноопосредованный противоопухолевый ответ. В одном варианте осуществления статус высокой ТМВ и высокая неоантигенная нагрузка указывают на повышенную вероятность благоприятного эффекта от иммуноонкологии, например, с помощью иммунотерапии. Используемый в настоящем документе термин "благоприятный эффект от терапии" относится к улучшению одного или более из общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, частичного ответа, полного ответа и общей частоты ответа, а также может включать уменьшение роста или размера опухоли, уменьшение тяжести симптомов заболевания, увеличение частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания или предупреждение ухудшения или инвалидности вследствие поражения заболеванием.

Другие факторы, например, факторы окружающей среды, могут быть связаны со статусом ТМВ. Например, статус курения пациентов с NSCLC коррелировал с распределением ТМВ, в результате чего настоящие и бывшие курильщики имели более высокую медиану ТМВ по сравнению с теми пациентами, которые никогда не курили. См. Peters et al., AACR, April 1-5, 2017, Washington, D.C. Присутствие драйверной мутации в опухолях NSCLC связано с более молодым возрастом, женским полом и статусом не курильщика. См. Singal et al., ASCO, June 1-5, 2017; Chicago, IL. Наблюдалась тенденция наличия связи присутствия драйверных мутаций, таких как EGFR, ALK или KRAS, с более низкой ТМВ ($P = 0,06$). Davis et al., AACR, April 1-5, 2017, Washington, D.C.

Используемый в настоящем документе термин "соматическая мутация" относится к приобретенному изменению в ДНК, которое происходит после оплодотворения яйцеклетки. Соматические мутации могут возникать в любых клетках организма, за исключением половых зародышевых клеток (сперматозоид и яйцеклетка), и поэтому не передаются детям. Эти изменения могут, но не всегда, вызывать рак или другие заболевания. Термин "мутация зародышевой линии" относится к изменению генов в репродуктивной клетке организма (яйцеклетка или сперматозоид), которая становится встроенной в ДНК каждой клетки в организме потомства. Мутации зародышевой линии передаются от родителей к потомству. Также называется "наследственная мутация". В анализе ТМВ мутации зародышевой линии рассматриваются как "исходное состояние" и вычитаются из количества мутаций, обнаруженных при биопсии опухоли, для определения ТМВ в пределах опухоли. Поскольку мутации зародышевой линии обнаруживаются в каждой клетке организма, их присутствие можно определить с помощью менее инвазивного взятия образцов, чем биопсия опухолей, таких как кровь или слюна. Мутации зародышевой линии могут повышать риск развития некоторых видов рака и могут принимать участие в ответе на химиотерапию.

Термин "измерение" или "измеренный", или "оценка" в отношении статуса ТМВ означает определение поддающегося измерению количества соматических мутаций в биологическом образце, полученном от субъекта. Следует учесть, что измерение может быть выполнено путем секвенирования нуклеиновых кислот, например cDNA, mRNA, exoRNA, ctDNA и cfDNA, в образце. Измерение выполняют на образце, полученном от субъекта, и/или эталонном образце или образцах, которые, например, могут быть детектированы *de novo* или соответствовать предыдущему определению. Измерение может быть выполнено, например, с использованием методов PCR, методов qPCR, методов секвенирования по Сэнгеру, методов геномного профилирования (включая комплексные генные панели), методов экзомного секвенирования, методов геномного секвенирования и/или любого другого метода, раскрытого в настоящем документе, известного специалисту в данной области. В некоторых вариантах осуществления измерение идентифицирует геномное изменение в секвенированных нуклеиновых кислотах. Методы профилирования генома (или гена) могут включать панели предварительно определенного набора генов, например, 150-500 генов, и в некоторых случаях геномные изменения, оцененные в панели генов, коррелируют с оцененными суммарными соматическими мутациями.

Используемый в настоящем документе термин "геномное изменение" относится к изменению (или мутации) в нуклеотидной последовательности генома опухоли, при этом указанное изменение не присутствует в нуклеотидной последовательности зародышевой линии и в некоторых вариантах осуществления представляет собой несинонимическую мутацию, включающую, но без ограничения, замену пары оснований, вставку пары оснований, делецию пары оснований, изменение количества копий (CNA), перестройку генов и любую их комбинацию. В конкретном варианте осуществления геномные изменения, измеренные в биологическом образце, представляют собой миссенс-мутации.

Термин "полногеномное секвенирование" или "WGS", как используется в настоящем документе, относится к методу секвенирования всего генома. Используемый в настоящем документе термин "полноэкзомное секвенирование" или "WES" относится к методу секвенирования всех кодирующих белок областей (экзонов) генома.

Термин "панель генов рака", "панель наследственных форм рака Hereditary Cancer Panel", "панель Comprehensive Cancer Panel" или "мультигенная панель рака Multigene Cancer Panel" в контексте настоящего описания относится к способу секвенирования поднабора целевых генов рака. В некоторых вариантах осуществления CGP включает секвенирование по меньшей мере около 15, по меньшей мере около 20, по меньшей мере около 25, по меньшей мере около 30, по меньшей мере около 35, по меньшей мере около 40, по меньшей мере около 45 или по меньшей мере около 50 целевых генов рака.

Термин "анализ методом геномного профилирования", "комплексное геномное профилирование"

или "CGP" относится к анализу, в котором анализируют панель генов и выбирают интроны для диагностики *in vitro*. CGP является комбинацией NGS и целевого биоинформационного анализа для скрининга в отношении мутаций в известных клинически значимых генах рака. Этот способ может быть использован для обнаружения мутаций, пропущенных при тестировании "горячих точек" (например, мутации BRCA1/BRCA2 или микросателлитные маркеры). В одном варианте осуществления гены в панели представляют собой гены, связанные с раком. В другом варианте осуществления анализ методом геномного профилирования представляет собой тест FOUNDATIONONE®.

Термин "гармонизация" относится к исследованию, проводимому для определения сопоставимости двух или более показателей и/или диагностических тестов. Исследования по гармонизации обеспечивают систематический подход к решению вопросов о том, как сравнить диагностические тесты друг с другом, а также их взаимозаменяемости при использовании для определения статуса биомаркера опухоли пациента. Как правило, по меньшей мере один хорошо охарактеризованный показатель и/или диагностический тест используют в качестве стандарта для сравнения с другими. Оценку конкордантности часто используют в исследованиях по гармонизации.

Термин "конкордантность", используемый в настоящем документе, относится к степени соответствия между двумя измерениями и/или диагностическими тестами. Соответствие может быть установлено с использованием как качественных, так и количественных методов. Количественные методы оценки конкордантности различаются в зависимости от типа измерения. Конкретное измерение может быть выражено в виде 1) категориальной/дихотомической переменной или 2) непрерывной переменной. "Категориальная/дихотомическая переменная" (например, выше или ниже порогового значения ТМВ) может использовать процентную согласованность, такую как общая согласованность параметров (OPA), положительная согласованность параметров (PPA) или отрицательная согласованность параметров (NPA), для оценки конкордантности. "Непрерывная переменная" (например, ТМВ с помощью WES) использует ранговую корреляцию Спирмена или коэффициент корреляции Пирсона (r), который принимает значения $-1 \leq r \leq +1$, для оценки конкордантности по спектру значений (Примечание: $r = +1$ или -1 означает, что каждая из переменных идеально коррелирует). Термин "аналитическая конкордантность" относится к степени согласованности по характеристикам (например, идентификация биомаркеров, типы геномных изменений и геномные сигнатуры, и оценка тестов на воспроизводимость) двух анализов или диагностических тестов для поддержки клинического применения. Термин "клиническая конкордантность" относится к степени согласованности по вопросу о том, как два анализа или диагностических теста коррелируют с клиническим результатом.

Термин "микросателлитная нестабильность" или "MSI" относится к изменению, которое возникает в ДНК определенных клеток (таких как опухолевые клетки), при котором количество повторов микросателлитов (короткие, повторяющиеся последовательности ДНК) отличается от количества повторов, которые были в ДНК, когда она была унаследована. MSI может представлять собой высокую микросателлитную нестабильность (MSI-H) или низкую микросателлитную нестабильность (MSI-L). Микросателлиты представляют собой короткие tandemные повторяющиеся последовательности ДНК из 1-6 оснований. Они подвержены ошибкам репликации ДНК, которые восстанавливаются путем репарации ошибочно спаренных оснований (MMR). Следовательно, микросателлиты являются хорошими индикаторами геномной нестабильности, в частности, дефицита репарации ошибок репликации (dMMR). MSI обычно диагностируют путем скрининга 5 микросателлитных маркеров (BAT-25, BAT-26, NR21, NR24 и NR27). MSI-H представляет присутствие по меньшей мере 2 нестабильных маркеров среди 5 проанализированных микросателлитных маркеров (или $\geq 30\%$ маркеров, если используется более крупная панель). MSI-L означает нестабильность 1 маркера MSI (или 10-30% маркеров в более крупных панелях). MSS означает отсутствие нестабильного микросателлитного маркера.

Используемый в настоящем документе термин "биологический образец" относится к биологическому материалу, выделенному от субъекта. Биологический образец может представлять собой любой биологический материал, подходящий для определения ТМВ, например, путем секвенирования нуклеиновых кислот в опухоли (или циркулирующих опухолевых клетках) и идентификации геномного изменения в секвенированных нуклеиновых кислотах. Биологический образец может представлять собой любую подходящую биологическую ткань или жидкость, такую как, например, опухолевая ткань, кровь, плазма крови и сыворотка. В одном варианте осуществления образец представляет собой опухолевую ткань, полученную путем биопсии, например, фиксированную формалином, заключенную в парафин (FFPE) опухолевую ткань или свежемороженную опухолевую ткань, или т.п. В другом варианте осуществления биологический образец представляет собой жидкую биопсию, которая в некоторых вариантах осуществления представляет собой одно или несколько из крови, сыворотки, плазмы, циркулирующих опухолевых клеток, *exoRNA*, *ctDNA* и *cfDNA*.

Термины "один раз каждую неделю", "один раз примерно каждые две недели" или любые другие сходные термины интервалов дозирования, используемые в настоящем документе, означают приблизительные числа. "Один раз примерно каждую неделю" может включать каждые семь дней \pm один день, то есть от каждых шести дней до каждых восьми дней. "Один раз каждые две недели" может включать каж-

дые четырнадцать дней \pm три дня, то есть от каждых одиннадцати дней до каждых семнадцати дней. Аналогичные приближения применяют, например, к одному разу каждые три недели, одному разу каждые четыре недели, одному разу каждые пять недель, одному разу каждые шесть недель и одному разу каждые двенадцать недель. В некоторых вариантах осуществления интервал дозирования, представляющий собой один раз примерно каждые шесть недель или один раз примерно каждые двенадцать недель, означает, что первую дозу можно вводить в любой день на первой неделе, а затем следующую дозу можно вводить в любой день на шестой или двенадцатой неделе, соответственно. В других вариантах осуществления интервал дозирования, представляющий собой один раз каждые шесть недель или один раз каждые двенадцать недель, означает, что первую дозу вводят в определенный день первой недели (например, в понедельник), а затем следующую дозу вводят в тот же день на шестой или двенадцатой неделе (т.е. в понедельник) соответственно.

Применение альтернативы (например, "или") следует понимать как означающее одну, обе или любую комбинацию указанных альтернатив. Используемые в настоящем документе неопределенные артикли "а" или "an" следует понимать как относящиеся к "одному или более" из любых перечисленных или пронумерованных компонентов.

Термины "около" или "состоящий по существу из" относятся к значению или композиции, которое находится в пределах приемлемого диапазона ошибок для конкретной величины или композиции, определенной специалистом в данной области, которая будет зависеть отчасти от того, как данная величина или композиция измерена или определена, то есть от ограничений конкретной системы измерения. Например, "около" или "состоящий по существу из" может означать в пределах одного стандартного отклонения или более чем одного стандартного отклонения согласно практике в данной области. Альтернативно, "около" или "состоящий по существу из" может означать диапазон до 10%. Кроме того, в частности, в отношении биологических систем или процессов, данные термины могут означать вплоть до порядка величины или до 5-кратного значения величины. При указании конкретных величин или композиций в заявке и формуле изобретения, если не указано иное, значение "около" или "состоящий по существу из", как предполагается, находится в пределах приемлемого диапазона ошибок для данной конкретной величины или композиции.

Как описано в настоящем документе, любой диапазон концентраций, диапазон процентов, диапазон отношений или диапазон целых чисел следует понимать как включающий величину любого целого числа в пределах указанного диапазона и, при необходимости, его частей (например, одну десятую и одну сотую целого числа), если не указано иное.

Перечень сокращений представлен в табл. 1.

Таблица 1. Перечень сокращений

Термин	Определение
Ab	антитело
AE	неблагоприятное событие
ALK	киназа анапластической лимфомы
AUC	площадь под кривой концентрация-время
BICR	Независимая центральная оценка в слепом режиме
BMS	Компания Bristol-Myers Squibb
BSA	площадь поверхности тела
cfDNA	свободно-клеточная ДНК
CI	доверительный интервал
CNS	центральная нервная система
CONSORT	Единые стандарты представления результатов испытаний
CR	полный ответ
ctDNA	циркулирующая опухолевая ДНК
CTLA-4	цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок
ECOG	Восточная объединенная онкологическая группа
e.g.	exempli gratia (например)
EGFR	рецептор эпидермального фактора роста
ELISA	твёрдофазный иммуноферментный анализ
exoRNA	экзосомальная РНК
HuMab	человеческое антитело; человеческое моноклональное антитело
i.e.	id est (то есть)
IV	Внутривенное введение
Kg	килограмм
mAb	моноклональное антитело
MB	мегабаза
mg	миллиграмм
MO	месяц
N	количество субъектов или наблюдений
NCCN	Национальная всеобщая онкологическая сеть
NSCLC	немелкоклеточный рак легкого
ORR	общая частота ответа
OS	общая выживаемость
PD-1	программируемой смерти-1
PD-L1	программируемой смерти-лиганд 1
PD-L2	программируемой смерти-лиганд 2
PFS	выживаемость без прогрессирования
PR	частичный ответ
Q2W	один раз каждые две недели
Q6W	один раз каждые шесть недель
Q12W	один раз каждые двенадцать недель
RCC	почечно-клеточная карцинома
RECIST	Критерии оценки ответа солидных опухолей
TILs	инфильтрующие опухоли лимфоциты
TMB	мутационная нагрузка опухоли
WES	полное секвенирование экзома
WGS	полногеномное секвенирование

Различные аспекты изобретения описаны более подробно в следующих подразделах.

Способы измерения мутационной нагрузки опухоли (ТМВ) для предварительной оценки и прогноза

Настоящее изобретение относится к способу идентификации субъекта, подходящего для лечения с помощью иммунотерапии, например, анти-PD-1 антителом или его антигенсвязывающей частью ("анти-PD-1 антитело") или анти-PD-L1 антителом или его антигенсвязывающей частью ("анти-PD-L1 антитело"), включающему измерение статуса мутационной нагрузки опухоли (ТМВ) биологического образца, полученного от субъекта. Изобретение основано на том факте, что разные типы опухолей демонстрируют разные уровни иммуногенности, и что иммуногенность опухоли напрямую связана с ТМВ и/или неоантигенной нагрузкой.

Когда опухоль растет, она накапливает соматические мутации, отсутствующие в ДНК зародышевой линии. Мутационная нагрузка опухоли (ТМВ) относится к количеству соматических мутаций в геноме опухоли и/или количеству соматических мутаций, приходящихся на участок генома опухоли (после учета ДНК варианта зародышевой линии). На приобретение соматических мутаций и, следовательно, более высокую ТМВ могут влиять различные механизмы, такие как воздействие экзогенного мутагена (например, курение табака или воздействие ультрафиолетового света) и мутации в результате нарушения системы репарации ошибочно спаренных оснований ДНК (mismatch repair) (например, MSI при колоректальном раке и раке пищевода). В солидных опухолях примерно 95% мутаций представляют собой одноосновные замены. (Vogelstein et al., Science (2013) 339:1546-1558.) "Несинонимическая мутация" в настоящем документе относится к нуклеотидной мутации, которая изменяет аминокислотную последовательность белка. Миссенс-мутации и нонсенс-мутации могут быть несинонимическими мутациями. "Миссенс-мутация" в настоящем документе относится к несинонимической точечной мутации, в которой изменение одного нуклеотида приводит к образованию кодона, который кодирует другую аминокислоту. "Нонсенс-мутация" в настоящем документе относится к несинонимической точечной мутации, в которой кодон заменен на преждевременный стоп-кодон, который приводит к усечению полученного белка.

В одном варианте осуществления соматические мутации могут экспрессироваться на уровне РНК и/или белка, что приводит к образованию неоантигенов (также называемых неоэпитопами). Неоантигены могут влиять на иммуноопосредованный противоопухолевый ответ. Например, распознавание неоантигенов может способствовать активации Т-клеток, клональной экспансии и дифференцировке в эффекторные Т-клетки и Т-клетки памяти.

По мере развития опухоли ранние клональные мутации (или "стволовые мутации") могут переноситься большинством или всеми опухолевыми клетками, в то время как поздние мутации (или "разветвленные мутации") могут возникать только в поднаборе опухолевых клеток или областей. (Yap et al., Sci Transl Med (2012) 4:1-5; Jamai-Hanjani et al., (2015) Clin Cancer Res 21:1258-1266.) В результате неоантигены, происходящие из клональных "стволовых" мутаций более широко распространены в геноме опухоли, чем "разветвленные" мутации и, таким образом, могут привести к большому количеству Т-клеток, реакционных против клонального неоантигена. (McGranahan et al., (2016) 351:1463-1469.) Как правило, опухоли с высокой ТМВ также могут иметь высокую неоантигенную нагрузку, что может привести к высокой иммуногенности опухоли и повышенной реакционной способности Т-клеток и противоопухолевому ответу. Таким образом, раковые заболевания с высокой ТМВ могут хорошо реагировать на лечение с помощью иммунотерапий, например, анти-PD-1 антителом или анти-PD-L1 антителом.

Прогресс в технологиях секвенирования позволяет оценить ландшафт геномных мутаций опухолей. Любые способы секвенирования, известные специалистам в данной области, могут быть использованы для секвенирования нуклеиновых кислот из генома опухоли (например, полученного из биологического образца от субъекта, пораженного опухолью). В одном варианте осуществления методы PCR или qPCR, методы секвенирования по Сэнгеру или методы секвенирования следующего поколения ("NGS") (такие как геномное профилирование, экзомное секвенирование или геномное секвенирование) могут быть использованы для измерения ТМВ. В некоторых вариантах осуществления статус ТМВ измеряют с использованием геномного профилирования. Геномное профилирование включает анализ нуклеиновых кислот из образцов опухолей, включая кодирующие и некодирующие области, и может быть выполнено с использованием способов, включающих оптимизированный отбор нуклеиновых кислот, выравнивание фрагментов и распознавание мутаций. В некоторых вариантах осуществления геномное профилирование обеспечивает анализ опухолей на основе секвенирования следующего поколения (NGS), которые можно оптимизировать по виду рака, по каждому гену и/или по каждому сайту. Геномное профилирование может включать использование множества индивидуально настроенных способов или алгоритмов выравнивания для оптимизации производительности в способах секвенирования, особенно в способах, основанных на массовом параллельном секвенировании большого числа разнообразных генетических событий в большом количестве разнообразных генов. Геномное профилирование обеспечивает всесторонний анализ генома рака у субъекта с качеством клинического применения, и результаты генетического анализа могут быть сопоставлены с соответствующими научными и медицинскими знаниями для повышения качества и эффективности противораковой терапии.

Геномное профилирование включает панель предварительно определенного набора генов, содержащего всего пять генов или до 1000 генов, от около 25 до около 750 генов, от около 100 до около 800

генов, от около 150 до около 500 генов, от около 200 до около 400 генов, от около 250 до около 350 генов. В одном варианте осуществления геномный профиль содержит по меньшей мере 300 генов, по меньшей мере 305 генов, по меньшей мере 310 генов, по меньшей мере 315 генов, по меньшей мере 320 генов, по меньшей мере 325 генов, по меньшей мере 330 генов, по меньшей мере 335 генов, по меньшей мере 340 генов, по меньшей мере 345 генов, по меньшей мере 350 генов, по меньшей мере 355 генов, по меньшей мере 360 генов, по меньшей мере 365 генов, по меньшей мере 370 генов, по меньшей мере 375 генов, по меньшей мере 380 генов, по меньшей мере 385 генов, по меньшей мере 390 генов, по меньшей мере 395 генов или по меньшей мере 400 генов. В другом варианте осуществления геномный профиль содержит по меньшей мере 325 генов. В конкретном варианте осуществления геномный профиль содержит по меньшей мере 315 связанных с раком генов и интроны в 28 генах (FOUNDATIONONE®) или полную кодирующую последовательность ДНК из 406 генов, интроны в 31 гене с перестройками, и последовательность РНК (кДНК) из 265 генов (FOUNDATIONONE® Heme). В другом варианте осуществления геномный профиль содержит 26 генов и 1000 ассоциированных мутаций (EXODX® Solid Tumor). В еще другом варианте осуществления геномный профиль содержит 76 генов (Guardant360). В еще другом варианте осуществления геномный профиль содержит 73 гена (Guardant360). В другом варианте осуществления геномный профиль содержит 354 гена и интроны в 28 генах для перестроек (FOUNDATIONONE® CDX™). В некоторых вариантах осуществления геномный профиль представляет собой FOUNDATIONONE® F1CDx. В другом варианте осуществления геномный профиль содержит 468 генов (MSK-IMPACT™). Один или несколько генов могут быть добавлены к геномному профилю, поскольку идентифицировано больше генов, связанных с онкологией.

Тест FOUNDATIONONE®

Тест FOUNDATIONONE® представляет собой тест для комплексного геномного профилирования солидных опухолей, включая, но без ограничения, солидные опухоли легкого, толстой кишки и молочной железы, меланомы и рака яичника. В тесте FOUNDATIONONE® используется метод улавливания гибридов на основе секвенирования следующего поколения для выявления геномных изменений (замены, вставки и делеции оснований, изменения количества копий и перестройки) и выбора геномных сигнатур (например, ТМВ и микросателлитной нестабильности). Тест охватывает 322 уникальных гена, включая всю кодирующую область из 315 генов, связанных с раком, и отобранные интроны из 28 генов. Полный список генов теста FOUNDATIONONE® представлен в табл. 2 и 3. См. FOUNDATIONONE: Technical Specifications, Foundation Medicine, Inc., доступный на сайте FoundationMedicine.com, последнее посещение 16 марта 2018 г., который полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

Таблица 2. Список генов, в которых полные кодирующие последовательности подвергнуты анализу в тесте FOUNDATIONONE®

<i>ABL1</i>	<i>BRAF</i>	<i>CHEK1</i>	<i>FANC</i> <i>C</i>	<i>GATA3</i>	<i>JAK2</i>	<i>MITF</i>	<i>PDCD1L</i> <i>G2 (PD-L2)</i>	<i>RBM10</i>	<i>STAT4</i>
<i>ABL2</i>	<i>BRCA1</i>	<i>CHEK2</i>	<i>FANC</i>	<i>GATA4</i>	<i>JAK3</i>	<i>MLH1</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>RET</i>	<i>STK11</i>

			D2						
ACVR1B	BRCA2	CIC	FANCE	GATA6	JUN	MPL	PDGFRB	RICTOR	SUFU
AKT1	BRD4	CREBBP	FANCF	GID4 (C17orf39)	KAT6A (MYST3)	MRE11A	PDK1	RNF43	SYK
AKT2	BRIP1	CRKL	FANCG	GLI1	KDM5A	MSH2	PIK3C2B	ROSI	TAF1
AKT3	BTG1	CRLF2	FANCL	GNAI1	KDM5C	MSH6	PIK3CA	RPTOR	TBX3
ALK	BTK	CSF1R	FAS	GNAI3	KDM6A	MTOR	PIK3CB	RUNX1	TERC
AMER1 (FAM123B)	C11orf30 (EMSY)	CTCF	FAT1	GNAQ	KDR	MUTYH	PIK3CG	RUNX1T1	TERT (Promoter only)
APC	CARD11	CTNNA1	FBXW7	GNAS	KEAP1	MYC	PIK3R1	SDHA	TET2
AR	CBFB	CTNNB1	FGF10	GPR124	KEL	MYCL (MYCL1)	PIK3R2	SDHB	TGFBR2
ARAF	CBL	CUL3	FGF14	GRIN2A	KIT	MYCN	PLCG2	SDHC	TNFAIP3
ARFRP1	CCND1	CYLD	FGF19	GRM3	KLHL6	MYD88	PMS2	SDHD	TNFRSF14
ARID1A	CCND2	DAXX	FGF23	GSK3B	KMT2A (MLL)	NF1	POLD1	SETD2	TOP1
ARID1B	CCND3	DDR2	FGF3	H3F3A	KMT2C (MLL3)	NF2	POLE	SF3B1	TOP2A
ARID2	CCNE1	DICER1	FGF4	HGF	KMT2D (MLL2)	NFE2L2	PPP2R1A	SLIT2	TP53
ASXL1	CD274 (PD-L1)	DNMT3A	FGF6	HNF1A	KRAS	NFKBIA	PRDM1	SMAD2	TSC1
ATM	CD79A	DOT1L	FGFR1	HRAS	LMO1	NKX2-1	PREX2	SMAD3	TSC2
ATR	CD79B	EGFR	FGFR2	HSD3B1	LRP1B	NOTCH1	PRKAR1A	SMAD4	TSHR
ATRX	CDC73	EP300	FGFR3	HSP90A1	LYN	NOTCH2	PRKCI	SMARCA4	U2AF1
AURKA	CDH1	EPHA3	FGFR4	IDH1	LZTR1	NOTCH3	PRKDC	SMARCB1	VEGFA
AURKB	CDK12	EPHA5	FH	IDH2	MAGI2	NPM1	PRSS8	SMO	VHL
AXIN1	CDK4	EPHA7	FLCN	IGF1R	MAP2K1 (MEK1)	NRAS	PTCH1	SNCAIP	WISP3
AXL	CDK6	EPHB1	FLT1	IGF2	MAP2K2 (MEK2)	NSD1	PTEN	SOCS1	WT1
BAP1	CDK8	ERBB2	FLT3	IKBKE	MAP2K4	NTRK1	PTPN11	SOX10	XPO1
BARD1	CDKN1A	ERBB3	FLT4	IKZF1	MAP3K1	NTRK2	QKI	SOX2	ZBTB2
BCL2	CDKN1B	ERBB4	FOXL2	IL7R	MCL1	NTRK3	RAC1	SOX9	ZNF217
BCL2L1	CDKN2A	ERG	FOXP1	INHBA	MDM2	NUP93	RAD50	SPEN	ZNF703
BCL2L2	CDKN2B	ERF1	FRS2	INPP4B	MDM4	PAK3	RAD51	SPOP	
BCL6	CDKN2C	ESR1	FUBP1	IRF2	MED12	PALB2	RAF1	SPTA1	
BCOR	CEBPA	EZH2	GABRA6	IRF4	MEF2B	PARK2	RANBP2	SRC	
BCORL1	CHD2	FAM46C	GATA1	IRS2	MEN1	PAX5	RARA	STAG2	
BLM	CHD4	FANCA	GATA2	JAK1	MET	PBRM1	RB1	STAT3	

Таблица 3. Список генов, в которых выбранные интроны подвергнуты анализу в тесте FOUNDATIONONE®

ALK	BRCA1	ETV1	FGFR1	MSH2	NTRK1	RARA
BCL2	BRCA2	ETV4	FGFR2	MYB	NTRK2	RET
BCR	BRD4	ETV5	FGFR3	MYC	PDGFRA	ROSI
BRAF	EGFR	ETV6	KIT	NOTCH2	RAF1	TMPRSS2

Тест FOUNDATIONONE® Heme

Тест FOUNDATIONONE® Heme представляет собой анализ комплексного геномного профилирования для гематологических злокачественных новообразований и сарком. В тесте FOUNDATIONONE® Heme используется метод улавливания гибридов на основе секвенирования следующего поколения для выявления геномных изменений (замены, вставки и делеции оснований, изменения количества копий и перестройки). Тест обеспечивает анализ кодирующих областей 406 генов, отобранных интронов 31 гена и последовательностей РНК 265 генов, обычно перестроенных при раке. Полный список генов для анализа FOUNDATIONONE® Heme представлен в табл. 4, 5 и 6. См. FOUNDATIONONE® HEME: Technical Specifications, Foundation Medicine, Inc., доступный на сайте FoundationMedicine.com, последнее посещение 16 марта 2018 г., который включен в настоящий документ путем ссылки в полном объеме.

Таблица 4. Список генов, в которых полные кодирующие последовательности подвергнуты анализу в тесте FOUNDATIONONE® Heme

<i>ABL1</i>	<i>BRIP1</i> (<i>BACH1</i>)	<i>CREBBP</i>	<i>FANCC</i>	<i>GNAS</i>	<i>JAK1</i>	<i>MET</i>	<i>PBRM1</i>	<i>ROS1</i>	<i>TCF3</i> (<i>E2A</i>)
<i>ACTB</i>	<i>BRSK1</i>	<i>CRKL</i>	<i>FANCD2</i>	<i>GPR124</i>	<i>JAK2</i>	<i>MIB1</i>	<i>PC</i>	<i>RPTOR</i>	<i>TCL1A</i> (<i>TCL1</i>)
<i>AKT1</i>	<i>BTG2</i>	<i>CRLF2</i>	<i>FANCE</i>	<i>GRIN2A</i>	<i>JAK3</i>	<i>MITF</i>	<i>PCBP1</i>	<i>RUNX1</i>	<i>TET2</i>
<i>AKT2</i>	<i>BTK</i>	<i>CSF1R</i>	<i>FANCF</i>	<i>GSK3B</i>	<i>JARID2</i>	<i>MKI67</i>	<i>PCLO</i>	<i>SIPR2</i>	<i>TGFBR2</i>
<i>AKT3</i>	<i>BTLA</i>	<i>CSF3R</i>	<i>FANCG</i>	<i>GTSE1</i>	<i>JUN</i>	<i>MLH1</i>	<i>PDCD1</i> (<i>PD-1</i>)	<i>SDHA</i>	<i>TLL2</i>
<i>ALK</i>	<i>C11orf30</i> (<i>EMSY</i>)	<i>CTCF</i>	<i>FANCL</i>	<i>HDAC1</i>	<i>KAT6A</i> (<i>MYST3</i>)	<i>MPL</i>	<i>PDCD11</i>	<i>SDHB</i>	<i>TMEM30</i> <i>A</i>
<i>AMER1</i>	<i>CAD</i>	<i>CTNNA1</i>	<i>FAS</i>	<i>HDAC4</i>	<i>KDM2B</i>	<i>MRE11A</i>	<i>PDCD1LG</i>	<i>SDHC</i>	<i>TMSB4XP</i>

(FAM123B or WTX)			(TNFRSF 6)				2 (PD-L2)		8 (TMSL3)
APC	CALR	CTNNB1	FBXO11	HDAC7	KDM4C	MSH2	PDGFRA	SDHD	TNFAIP3
APH1A	CARD11	CUX1	FBXO31	HGF	KDM5A	MSH3	PDGFRB	SERP2	TNFRSF11A
AR	CBFB	CXCR4	FBXW7	HIST1H1C	KDM5C	MSH6	PDK1	SETBP1	TNFRSF14
ARAF	CBL	DAXX	FGF10	HIST1H1D	KDM6A	MTOR	PHF6	SETD2	TNFRSF17
ARFRP1	CCND1	DDR2	FGF14	HIST1H1E	KDR	MUTYH	PIK3CA	SF3B1	TOP1
ARHGAP26 (GRAF)	CCND2	DDX3X	FGF19	HIST1H2AC	KEAP1	MYC	PIK3CG	SGK1	TP53
ARID1A	CCND3	DNM2	FGF23	HIST1H2AG	KIT	MYCL (MYCL1)	PIK3R1	SMAD2	TP63
ARID2	CCNE1	DNMT3A	FGF3	HIST1H2AL	KLHL6	MYCN	PIK3R2	SMAD4	TRAF2
ASMTL	CCT6B	DOT1L	FGF4	HIST1H2AM	KMT2A (MLL)	MYD88	PIM1	SMARCA1	TRAF3
ASXL1	CD22	DTX1	FGF6	HIST1H2BC	KMT2C (MLL3)	MYO18A	PLCG2	SMARCA4	TRAF5
ATM	CD274 (PD-L1)	DUSP2	FGFR1	HIST1H2BJ	KMT2D (MLL2)	NCOR2	POT1	SMARCB1	TSC1
ATR	CD36	DUSP9	FGFR2	HIST1H2BK	KRAS	NCSTN	PPP2R1A	SMC1A	TSC2
ATRX	CD58	EBF1	FGFR3	HIST1H2BO	LEF1	NF1	PRDM1	SMC3	TSHR
AURKA	CD70	ECT2L	FGFR4	HIST1H3B	LRP1B	NF2	PRKARIA	SMO	TUSC3
AURKB	CD79A	EED	FHIT	HNF1A	LRRK2	NFE2L2	PRKDC	SOCS1	TYK2
AXIN1	CD79B	EGFR	FLCN	HRAS	MAF	NFKBIA	PRSS8	SOCS2	U2AF1
AXL	CDC73	ELP2	FLT1	HSP90AA1	MAFB	NKX2-1	PTCH1	SOCS3	U2AF2
B2M	CDH1	EP300	FLT3	ICK	MAGED1	NOD1	PTEN	SOX10	VHL
BAP1	CDK12	EPHA3	FLT4	ID3	MALT1	NOTCH1	PTPN11	SOX2	WDR90
BARD1	CDK4	EPHA5	FLYWCH1	IDH1	MAP2K1 (MEK1)	NOTCH2	PTPN2	SPEN	WHSC1 (MMSET or NSD2)
BCL10	CDK6	EPHA7	FOXL2	IDH2	MAP2K2 (MEK2)	NPM1	PTPN6 (SHP-1)	SPOP	WISP3
BCL11B	CDK8	EPHB1	FOXO1	IGF1R	MAP2K4	NRAS	PTPRO	SRC	WT1
BCL2	CDKN1B	ERBB2	FOXO3	IKBKE	MAP3K1	NT5C2	RAD21	SRSF2	XBP1
BCL2L2	CDKN2A	ERBB3	FOXP1	IKZF1	MAP3K14	NTRK1	RAD50	STAG2	XPO1
BCL6	CDKN2B	ERBB4	FRS2	IKZF2	MAP3K6	NTRK2	RAD51	STAT3	YY1AP1
BCL7A	CDKN2C	ERG	GADD45B	IKZF3	MAP3K7	NTRK3	RAF1	STAT4	ZMYM3
BCOR	CEBPA	ESR1	GATA1	IL7R	MAPK1	NUP93	RARA	STAT5A	ZNF217
BCORL1	CHD2	ETS1	GATA2	INHBA	MCL1	NUP98	RASGEF1A	STAT5B	ZNF24 (ZSCAN3)
BIRC3	CHEK1	ETV6	GATA3	INPP4B	MDM2	P2RY8	RB1	STAT6	ZNF703
BLM	CHEK2	EXOSC6	GID4 (C17orf39)	INPP5D (SHIP)	MDM4	PAG1	RELN	STK11	ZRSR2
BRAF	CIC	EZH2	GNA11	IRF1	MED12	PAK3	RET	SUFU	
BRCA1	CIITA	FAF1	GNA12	IRF4	MEF2B	PALB2	RHOA	SUZ12	
BRCA2	CKS1B	FAM46C	GNA13	IRF8	MEF2C	PASK	RICTOR	TAF1	
BRD4	CPS1	FANCA	GNAQ	IRS2	MEN1	PAX5	RNF43	TBL1XR1	

Таблица 5. Перечень генов, в которых отобранные интроны подвергнуты анализу в тесте FOUNDATIONONE® Heme

ALK	BRAF	EPOR	ETV6	IGK	KMT2A (MLL)	PDGFRB	ROS1
BCL2	CCND1	ETV1	EWSR1	IGL	MYC	RAF1	TMPRSS2
BCL6	CRLF2	ETV4	FGFR2	JAK1	NTRK1	RARA	TRG
BCR	EGFR	ETV5	IGH	JAK2	PDGFRA	RET	

Таблица 8. Гены в анализе Guardant360

AKT1	CCND2	EZH2	IDH1	MLH1	PDGFRA	SMAD4
ALK	CCNE1	FBXW7	IDH2	MPL	PIK3CA	SMO
APC	CDH1	FGFR1	JAK2	MTOR	PTEN	STK11
AR	CDK4	FGFR2	JAK3	MYC	PTPN11	TERT (включая промотор)
ARAF	CDK6	FGFR3	KIT	NF1	RAF1	TP53
ARID1A	CDKN2A	GATA3	KRAS	NFE2L2	RB1	TSC1
ATM	CTNNB1	GNA11	MAP2K1	NOTCH1	RET	VHL
BRAF	DDR2	GNAQ	MAP2K2	NPM1	RHEB	
BRCA1	EGFR	GNAS	MAPK1	NRAS	RHOA	
BRCA2	ERBB2	HNF1A	MAPK3	NTRK1	RIT1	
CCND1	ESR1	HRAS	MET	NTRK3	ROS1	

Таблица 9. Индели в анализе Guardant360

APC	BRCA1	CDKN2A	GATA3	MLH1	PDGFRA	SMAD4	TSC1
ARID1A	BRCA2	EGFR	KIT	MTOR	PTEN	STK11	VHL
ATM	CDH1	ERBB2	MET	NF1	RB1	TP53	

Таблица 10. Амплификации (CNV) в анализе Guardant360

AR	CCND2	CDK6	FGFR1	KRAS	PDGFRA
BRAF	CCNE1	EGFR	FGFR2	MET	PIK3CA
CCND1	CDK4	ERBB2	KIT	MYC	RAF1

Таблица 11. Слияния в анализе Guardant360

ALK	FGFR3	RET
FGFR2	NTRK1	ROS1

Анализ ILLUMINA® TruSight

В некоторых вариантах осуществления TMB определяли с использованием анализа TruSight Tumor 170 (ILLUMINA®). Анализ TruSight Tumor 170 представляет собой анализ по технологии секвенирования следующего поколения, который охватывает 170 генов, связанных с распространенными солидными опухолями, который одновременно анализирует ДНК и РНК. Анализ TruSight Tumor 170 оценивает слияния, варианты сплайсинга, вставки/делеции, одиночные нуклеотидные варианты (SNV) и амплификации. Списки генов для анализа TruSight Tumor 170 показаны в табл. 12-14.

Таблица 12. Гены (амплификации) для анализа TruSight Tumor 170

AKT2	CDK4	FGF1	FGF7	LAMP1	PDGFRB
ALK	CDK6	FGF10	FGF8	MDM2	PIK3CA
AR	CHEK1	FGF14	FGF9	MDM4	PIK3CB
ATM	CHEK2	FGF19	FGFR1	MET	PTEN
BRAF	EGFR	FGF2	FGFR2	MYC	RAF1
BRCA1	ERBB2	FGF23	FGFR3	MYCL1	RET
BRCA2	ERBB3	FGF3	FGFR4	MYCN	RICTOR
CCND1	ERCC1	FGF4	JAK2	NRAS	RPS6KB1
CCND3	ERCC2	FGF5	KIT	NRG1	TFRC
CCNE1	ESR1	FGF6	KRAS	PDGFRA	

Таблица 13. Гены (слияния) для анализа TruSight Tumor 170

ABL1	BRCA1	ERG	FGFR1	JAK2	MSH2	NTRK2	PPARG
AKT3	BRCA2	ESR1	FGFR2	KDR	MYC	NTRK3	RAF1
ALK	CDK4	ETSI	FGFR3	KIF5B	NOTCH1	PAX3	RET
AR	CSF1R	ETV1	FGFR4	KIT	NOTCH2	PAX7	ROS1
AXL	EGFR	ETV4	FLI1	KMT2A (MLL)	NOTCH3	PDGFRA	RPS6KB1
BCL2	EML4	ETV5	FLT1	MET	NRG1	PDGFRB	TMPRSS2
BRAF	ERBB2	EWSR1	FLT3	MLL2	NTRK1	PIK3CA	

Таблица 14. Гены (малые варианты) для анализа TruSight Tumor 170

AKT1	BRCA2	CHEK1	ESR1	FGF7	HRAS	MET	NF1	PMS2	SLX4
AKT2	BRP1	CHEK2	EZH2	FGF8	IDH1	MLH1	NOTCH1	PPP2R2A	SMAD4
AKT3	BTK	CREBBP	FAM175A	FGF9	IDH2	MLL2	NOTCH2	PTCH1	SMARCB1
ALK	CARD11	CSF1R	FANCI	FGFR1	INPP4B	MPL	NOTCH3	PTEN	SMO
APC	CCND1	CTNNB1	FANCL	FGFR2	JAK2	MRE11A	NPM1	PTPN11	SRC
AR	CCND2	DDR2	FBXW7	FGFR3	JAK3	MSH2	NRAS	RAD51	STK11
ARID1A	CCNE1	DNMT3A	FGF1	FGFR4	KDR	MSH3	NRG1	RAD51B	TERT
ATM	CD79A	EGFR	FGF10	FLT1	KIT	MSH6	PALB2	RAD51C	TET2
ATR	CD79B	EP300	FGF14	FLT3	KMT2A (MLL)	MTOR	PDGFRA	RAD51D	TP53
BAP1	CDH1	ERBB2	FGF2	FOXL2	KRAS	MUTYH	PDGFRB	RAD54L	TSC1
BARD1	CDK12	ERBB3	FGF23	GEN1	MAP2K1	MYC	PIK3CA	RB1	TSC2
BCL2	CDK4	ERBB4	FGF3	GNA11	MAP2K2	MYCL1	PIK3CB	RET	VHL
BCL6	CDK6	ERCC1	FGF4	GNAQ	MCL1	MYCN	PIK3CD	RICTOR	XRCC2
BRAF	CDKN2A	ERCC2	FGF5	GNAS	MDM2	MYD88	PIK3CG	ROS1	
BRCA1	CEBPA	ERG	FGF6	HNF1A	MDM4	NBN	PIK3R1	RPS6KB1	

Анализ FOUNDATIONONE® F1CDx

FOUNDATIONONE® CDX™ ("F1CDx") представляет собой *in vitro* диагностический тест на основе секвенирования нового поколения для выявления замен, вставок и делеций (инделей), а также изменений количества копий (CNA) в 324 генах и выбора перестроек генов, а также геномные особенности, включая микросателлитную нестабильность (MSI) и мутационную нагрузку опухоли (TMB) с использованием ДНК, выделенной из образцов опухолевой ткани, зафиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). F1CDx одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) для диагностики ряда опухолей, включая NSCLC, меланому, рак молочной железы, колоректальный рак и рак яичников.

В анализе F1CDx используется способ выделения единичной ДНК из обычных FFPE образцов, полученных путем биопсии или хирургической резекции, 50-1000 нг которых используют для построения библиотеки Whole-Genome Shotgun и захвата на основе гибридизации всех кодирующих экзонов из 309 генов, связанных с раком, одной промоторной области, одной некодирующей РНК (ncRNA) и выбранных интронных областей из 34 обычно перестроенных генов, 21 из которых также включает кодирующие экзоны. В табл. 15 и 16 представлен полный список генов, включенных в F1CDx. В целом, анализ выявляет изменения в общей сложности в 324 генах. Используя платформу ILLUMINA® HiSeq 4000, библиотеки, отобранные методом гибридного захвата, секвенировали до высокой однородной глубины (нацеливание > 500X медиана покрытия с > 99% экзонов при покрытии > 100X). Затем данные секвенирования обрабатывали с использованием индивидуализированного анализа "analysis pipeline", разработанного для выявления всех классов геномных изменений, включая замены оснований, индели, изменения количества копий (амплификации и делеции гомозиготных генов) и выбранные геномные перестройки (например, слияния генов). Кроме того, сообщается о геномных признаках, включая микросателлитную нестабильность (MSI) и мутационную нагрузку опухоли (TMB).

Таблица 15. Гены с полными кодирующими экзонными областями, включенные в FOUNDATIONONE® CDX™ для выявления замен, вставок и делеций (инделей), и изменений количества копий (CNA)

<i>ABL1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>CDKN2C</i>	<i>ERCC4</i>	<i>GATA3</i>	<i>KDM5C</i>	<i>MRE11A</i>	<i>PARP2</i>	<i>RAD51</i>	<i>SOX9</i>
<i>ACVR1B</i>	<i>BRD4</i>	<i>CEBPA</i>	<i>ERG</i>	<i>GATA4</i>	<i>KDM6A</i>	<i>MSH2</i>	<i>PARP3</i>	<i>RAD51B</i>	<i>SPEN</i>
<i>AKT1</i>	<i>BRIP1</i>	<i>CHEK1</i>	<i>ERRF1</i>	<i>GATA6</i>	<i>KDR</i>	<i>MSH3</i>	<i>PAX5</i>	<i>RAD51C</i>	<i>SPOP</i>
<i>AKT2</i>	<i>BTG1</i>	<i>CHEK2</i>	<i>ESR1</i>	<i>GID4</i> (<i>C17orf39</i>)	<i>KEAP1</i>	<i>MSH6</i>	<i>PBRM1</i>	<i>RAD51D</i>	<i>SRC</i>
<i>AKT3</i>	<i>BTG2</i>	<i>CIC</i>	<i>EZH2</i>	<i>GNA11</i>	<i>KEL</i>	<i>MST1R</i>	<i>PDCD1</i>	<i>RAD52</i>	<i>STAG2</i>
<i>ALK</i>	<i>BTK</i>	<i>CREBBP</i>	<i>FAM46C</i>	<i>GNA13</i>	<i>KIT</i>	<i>MTAP</i>	<i>PDCD1L</i> <i>G2</i>	<i>RAD54L</i>	<i>STAT3</i>
<i>ALOX12B</i>	<i>C11orf30</i>	<i>CRKL</i>	<i>FANCA</i>	<i>GNAQ</i>	<i>KLHL6</i>	<i>MTOR</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>RAF1</i>	<i>STK11</i>
<i>AMER1</i>	<i>CALR</i>	<i>CSF1R</i>	<i>FANCC</i>	<i>GNAS</i>	<i>KMT2A</i> (<i>MLL</i>)	<i>MUTYH</i>	<i>PDGFRB</i>	<i>RARA</i>	<i>SUFU</i>
<i>APC</i>	<i>CARD11</i>	<i>CSF3R</i>	<i>FANCG</i>	<i>GRM3</i>	<i>KMT2D</i> (<i>MLL2</i>)	<i>MYC</i>	<i>PDK1</i>	<i>RB1</i>	<i>SYK</i>
<i>AR</i>	<i>CASP8</i>	<i>CTCF</i>	<i>FANCL</i>	<i>GSK3B</i>	<i>KRAS</i>	<i>MYCL</i>	<i>PIK3C2B</i>	<i>RBM10</i>	<i>TBX3</i>
<i>ARAF</i>	<i>CBFB</i>	<i>CTNNA1</i>	<i>FAS</i>	<i>H3F3A</i>	<i>LTK</i>	<i>MYCN</i>	<i>PIK3C2G</i>	<i>REL</i>	<i>TEK</i>
<i>ARFRP1</i>	<i>CBL</i>	<i>CTNNB1</i>	<i>FBXW7</i>	<i>HDAC1</i>	<i>LYN</i>	<i>MYD88</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>RET</i>	<i>TET2</i>
<i>ARID1A</i>	<i>CCND1</i>	<i>CUL3</i>	<i>FGF10</i>	<i>HGF</i>	<i>MAF</i>	<i>NBN</i>	<i>PIK3CB</i>	<i>RICTOR</i>	<i>TGFBR</i> <i>2</i>
<i>ASXL1</i>	<i>CCND2</i>	<i>CUL4A</i>	<i>FGF12</i>	<i>HNF1A</i>	<i>MAP2K1</i>	<i>NF1</i>	<i>PIK3R1</i>	<i>RNF43</i>	<i>TIPARP</i>
<i>ATM</i>	<i>CCND3</i>	<i>CXCR4</i>	<i>FGF14</i>	<i>HRAS</i>	<i>MAP2K2</i>	<i>NF2</i>	<i>PIM1</i>	<i>ROS1</i>	<i>TNFAIP</i> <i>3</i>
<i>ATR</i>	<i>CCNE1</i>	<i>CYP17A1</i>	<i>FGF19</i>	<i>HSD3B1</i>	<i>MAP2K4</i>	<i>NFE2L2</i>	<i>PMS2</i>	<i>RPTOR</i>	<i>TNFRSF</i> <i>14</i>
<i>ATRX</i>	<i>CD22</i>	<i>DAXX</i>	<i>FGF23</i>	<i>ID3</i>	<i>MAP3K1</i>	<i>NFKB1A</i>	<i>POLD1</i>	<i>SDHA</i>	<i>TP53</i>
<i>AURKA</i>	<i>CD274</i>	<i>DDR1</i>	<i>FGF3</i>	<i>IDH1</i>	<i>MAP3K1</i> <i>3</i>	<i>NKX2-1</i>	<i>POLE</i>	<i>SDHB</i>	<i>TSC1</i>
<i>AURKB</i>	<i>CD70</i>	<i>DDR2</i>	<i>FGF4</i>	<i>IDH2</i>	<i>MAPK1</i>	<i>NOTCH1</i>	<i>PPARG</i>	<i>SDHC</i>	<i>TSC2</i>
<i>AXIN1</i>	<i>CD79A</i>	<i>DIS3</i>	<i>FGF6</i>	<i>IGF1R</i>	<i>MCL1</i>	<i>NOTCH2</i>	<i>PPP2R1A</i>	<i>SDHD</i>	<i>TYRO3</i>
<i>AXL</i>	<i>CD79B</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>FGFR1</i>	<i>IKBKE</i>	<i>MDM2</i>	<i>NOTCH3</i>	<i>PPP2R2A</i>	<i>SETD2</i>	<i>U2AF1</i>
<i>BAP1</i>	<i>CDC73</i>	<i>DOT1L</i>	<i>FGFR2</i>	<i>IKZF1</i>	<i>MDM4</i>	<i>NPM1</i>	<i>PRDM1</i>	<i>SF3B1</i>	<i>VEGFA</i>
<i>BARD1</i>	<i>CDH1</i>	<i>EED</i>	<i>FGFR3</i>	<i>INPP4B</i>	<i>MED12</i>	<i>NRAS</i>	<i>PRKARIA</i>	<i>SGK1</i>	<i>VHL</i>
<i>BCL2</i>	<i>CDK12</i>	<i>EGFR</i>	<i>FGFR4</i>	<i>IRF2</i>	<i>MEF2B</i>	<i>NT5C2</i>	<i>PRKCI</i>	<i>SMAD2</i>	<i>WHSC1</i>
<i>BCL2L1</i>	<i>CDK4</i>	<i>EP300</i>	<i>FH</i>	<i>IRF4</i>	<i>MEN1</i>	<i>NTRK1</i>	<i>PTCH1</i>	<i>SMAD4</i>	<i>WHSC1</i> <i>L1</i>
<i>BCL2L2</i>	<i>CDK6</i>	<i>EPHA3</i>	<i>FLCN</i>	<i>IRS2</i>	<i>MERTK</i>	<i>NTRK2</i>	<i>PTEN</i>	<i>SMARCA4</i>	<i>WT1</i>
<i>BCL6</i>	<i>CDK8</i>	<i>EPHB1</i>	<i>FLT1</i>	<i>JAK1</i>	<i>MET</i>	<i>NTRK3</i>	<i>PTPN11</i>	<i>SMARCB1</i>	<i>XPO1</i>
<i>BCOR</i>	<i>CDKN1A</i>	<i>EPHB4</i>	<i>FLT3</i>	<i>JAK2</i>	<i>MITF</i>	<i>P2RY8</i>	<i>PTPRO</i>	<i>SMO</i>	<i>XRCC2</i>
<i>BCORL1</i>	<i>CDKN1B</i>	<i>ERBB2</i>	<i>FOXL2</i>	<i>JAK3</i>	<i>MKNK1</i>	<i>PALB2</i>	<i>QKI</i>	<i>SNCAIP</i>	<i>ZNF217</i>
<i>BRAF</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>ERBB3</i>	<i>FUBP1</i>	<i>JUN</i>	<i>MLH1</i>	<i>PARK2</i>	<i>RAC1</i>	<i>SOCS1</i>	<i>ZNF703</i>
<i>BRCA1</i>	<i>CDKN2B</i>	<i>ERBB4</i>	<i>GABRA6</i>	<i>KDM5A</i>	<i>MPL</i>	<i>PARP1</i>	<i>RAD21</i>	<i>SOX2</i>	

Таблица 16. Гены с выбранными интронными областями для выявления перестроек генов, один с 3'UTR, один ген с промоторной областью и один ген ncRNA

<i>ALK</i> интроны 18, 19	<i>BRCA1</i> интроны 2, 7, 8, 12, 16, 19, 20	<i>ETV4</i> интроны 5, 6	<i>EZR</i> интроны 9- 11	<i>KIT</i> интрон 16	<i>MYC</i> интрон 1	<i>NUTM1</i> интрон 1	<i>RET</i> интроны 7-11	<i>SLC34A2</i> интрон 4
<i>BCL2</i> 3'UTR	<i>BRCA2</i> интрон 2	<i>ETV5</i> интроны 6, 7	<i>FGFR1</i> интрон 1, 5, 17	<i>KMT2A</i> (<i>MLL</i>) интроны 6-11	<i>NOTCH2</i> интрон 26	<i>PDGFRA</i> интроны 7, 9, 11	<i>ROS1</i> интроны 31-35	<i>TERC</i> ncRNA
<i>BCR</i> интроны 8, 13, 14	<i>CD74</i> интроны 6- 8	<i>ETV6</i> интроны 5, 6	<i>FGFR2</i> интрон 1, 17	<i>MSH2</i> интрон 5	<i>NTRK1</i> интроны 8-10	<i>RAF1</i> интроны 4-8	<i>RSPO2</i> интрон 1	<i>TERT</i> Промотор
<i>BRAF</i> интроны 7- 10	<i>EGFR</i> интроны 7, 15, 24- 27	<i>EWSR1</i> интроны 7-13	<i>FGFR3</i> интрон 17	<i>MYB</i> интрон 14	<i>NTRK2</i> интрон 12	<i>RARA</i> интрон 2	<i>SDC4</i> интрон 2	<i>TMPRSS2</i> интроны 1- 3

Тест F1CDx выявляет различные изменения в последовательностях генов и/или интронов, включая замены, вставки/делеции и CNA. Ранее считалось, что тест F1CDx имеет конкордантность с внешне утвержденным анализом NGS и тестом FOUNDATIONONE® (F1 LDT). См. FOUNDATIONONE® CDX™: Technical Information, Foundation Medicine, Inc., доступная на сайте FoundationMedicine.com, последнее посещение 16 марта 2018 г., который полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

MSK-IMPACT™

В некоторых вариантах осуществления статус ТМВ оценивают с использованием теста MSK-IMPACT™. В тесте MSK-IMPACT™ используется секвенирование нового поколения для анализа мутационного статуса 468 генов. Целевые гены захватываются и секвенируются на приборе ILLUMINA® HISEQ™. Тест MSK-IMPACT™ одобрен FDA США для выявления соматических мутаций и микросателлитной нестабильности в солидных злокачественных новообразованиях. Полный список из 468 генов, проанализированных с помощью теста MSK-IMPACT™, приведен в табл. 17. См. Evaluation of Automatic Class III Designation for MSK-IMPACT (Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets): Decision Summary, United States Food and Drug Administration, November 15, 2017, доступно на сайте access-data.fda.gov.

Таблица 17. Гены, проанализированные с помощью теста MSK-IMPACT™

<i>ABL1</i>	<i>CALR</i>	<i>DDR2</i>	<i>FGF19</i>	<i>HIST3H3</i>	<i>LYN</i>	<i>NKX2-1</i>	<i>PPARG</i>	<i>RPTOR</i>	<i>STK19</i>
<i>ACVR1</i>	<i>CARD11</i>	<i>DICER1</i>	<i>FGF3</i>	<i>HLA-A</i>	<i>MALT1</i>	<i>NKX3-1</i>	<i>PPM1D</i>	<i>RRAGC</i>	<i>STK40</i>

AGO2	CARM1	DIS3	FGF4	HLA-B	MAP2K1	NOTCH1	PPP2 R1A	RRAS	SUFU
AKT1	CASP8	DNAJB1	FGFR1	HNFB1A	MAP2K2	NOTCH2	PPP4R2	RRAS2	SUZ12
AKT2	CBFB	DNMT1	FGFR2	HOXB13	MAP2K4	NOTCH3	PPP6C	RTEL1	SYK
AKT3	CBL	DNMT3A	FGFR3	HRAS	MAP3K1	NOTCH4	PRDM1	RUNX1	TAP1
ALK	CCND1	DNMT3B	FGFR4	ICOSLG	MAP3K13	NPM1	PRDM14	RXRA	TAP2
ALOX 12B	CCND2	DOT1L	FH	ID3	MAP3 K14	NRAS	PREX2	RYBP	TBX3
AMER1	CCND3	DROSHA	FLCN	IDH1	MAPK1	NSD1	PRKARIA	SDHA	TCEB1
ANKRD 11	CCNE1	DUSP4	FLT1	IDH2	MAPK3	NTHL1	PRKCI	SDHAF2	TCF3
APC	CD274	E2F3	FLT3	IFNGR1	MAPKAP1	NTRK1	PRKD1	SDHB	TCF7L 2
AR	CD276	EED	FLT4	IGF1	MAX	NTRK2	PTCH1	SDHC	TEK
ARAF	CD79A	EGFL7	FOXA1	IGF1R	MCL1	NTRK3	PTEN	SDHD	TERT
ARID1A	CD79B	EGFR	FOXL2	IGF2	MDC1	NUF2	PTP4A1	SESN1	TET1
ARID1B	CDC42	EIF1AX	FOXO1	IKBKE	MDM2	NUP93	PTPN11	SESN2	TET2
ARID2	CDC73	EIF4A2	FOXP1	IKZF1	MDM4	PAK1	PTPRD	SESN3	TGFB R1
ARID5B	CDH1	EIF4E	FUBP1	IL10	MED12	PAK7	PTPRS	SETD2	TGFB R2
ASXL1	CDK12	ELF3	FYN	IL7R	MEF2B	PALB2	PTPRT	SETD8	TMEM 127
ASXL2	CDK4	EP300	GATA1	INHA	MEN1	PARK2	RAB35	SF3B1	TMPR SS2
ATM	CDK6	EPAS1	GATA2	INHBA	MET	PARP1	RAC1	SH2B3	TNFAI P3
ATR	CDK8	EPCAM	GATA3	INPP4A	MGA	PAX5	RAC2	SH2D1A	TNFRS F14
ATRX	CDKN1A	EPHA3	GLI1	INPP4B	MTF	PBRM1	RAD21	SHOC2	TOP1
AURKA	CDKN1B	EPHA5	GNA11	INPPL1	MLH1	PDCD1	RAD50	SHQ1	TP53
AURKB	CDKN2Ap 14ARF	EPHA7	GNAQ	INSR	MPL	PDCD1L G2	RAD51	SLX4	TP53B P1
AXIN1	CDKN2Ap 16INK4A	EPHB1	GNAS	IRF4	MRE11A	PDGFRA	RAD51B	SMAD2	TP63
AXIN2	CDKN2B	ERBB2	GPS2	IRS1	MSH2	PDGFRB	RAD51C	SMAD3	TRAF2
AXL	CDKN2C	ERBB3	GREM1	IRS2	MSH3	PDPK1	RAD51D	SMAD4	TRAF7
B2M	CEBPA	ERBB4	GRIN2A	JAK1	MSH6	PGR	RAD52	SMARCA 4	TSC1
BABAM 1	CENPA	ERCC2	GSK3B	JAK2	MSI1	PHOX2B	RAD54L	SMARCB 1	TSC2
BAP1	CHEK1	ERCC3	H3F3A	JAK3	MSI2	PIK3C2G	RAF1	SMARC D1	TSHR
BARD1	CHEK2	ERCC4	H3F3B	JUN	MST1	PIK3C3	RARA	SMO	U2AF1
BBC3	CIC	ERCC5	H3F3C	KDM5A	MST1R	PIK3CA	RASA1	SMYD3	UPF1
BCL10	CREBBP	ERF	HGF	KDM5C	MTOR	PIK3CB	RB1	SOCS1	VEGF A
BCL2	CRKL	ERG	HIST1H1 C	KDM6A	MUTYH	PIK3CD	RBM10	SOS1	VHL
BCL2L1	CRLF2	ERRF1	HIST1H2 BD	KDR	MYC	PIK3CG	RECQL	SOX17	VTCN1
BCL2L1 1	CSDE1	ESR1	HIST1H3 A	KEAP1	MYCL1	PIK3R1	RECQL4	SOX2	WHSC 1
BCL6	CSF1R	ETV1	HIST1H3 B	KIT	MYCN	PIK3R2	REL	SOX9	WHSC 1L1
BCOR	CSF3R	ETV6	HIST1H3 C	KLF4	MYD88	PIK3R3	RET	SPEN	WT1
BIRC3	CTCF	EZH1	HIST1H3 D	KMT2A	MYOD1	PIM1	RFWD2	SPOP	WWTR 1
BLM	CTLA-4	EZH2	HIST1H3 E	KMT2B	NBN	PLCG2	RHEB	SPRED1	XIAP
BMPR1 A	CTNNB1	FAM175A	HIST1H3 F	KMT2C	NCOA3	PLK2	RHOA	SRC	XPO1
BRAF	CUL3	FAM46C	HIST1H3 G	KMT2D	NCOR1	PMAIP1	RICTOR	SRSF2	XRCC 2
BRCA1	CXCR4	FAM58A	HIST1H3 H	KNSTRN	NEGR1	PMS1	RIT1	STAG2	YAP1
BRCA2	CYLD	FANCA	HIST1H3 I	KRAS	NF1	PMS2	RNF43	STAT3	YES1
BRD4	CYSLTR2	FANCC	HIST1H3 J	LATS1	NF2	PNRC1	ROS1	STAT5A	ZFH3
BRIP1	DAXX	FAT1	HIST2H3 C	LATS2	NFE2L2	POLD1	RPS6KA4	STAT5B	
BTK	DCUN1D 1	FBXW7	HIST2H3 D	LMO1	NFKBIA	POLE	RPS6KB2	STK11	
ABL1	CALR	DDR2	FGF19	HIST3H3	LYN	NKX2-1	PPARG	RPTOR	STK19

Тесты NEOGENOMICS® NEOTYPE™

В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием теста NEOGENOMICS® NEOTYPE™. В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием NEO-TYPE™ Discovery Profile. В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием NEO-TYPE™ Solid Tumor Profile. Тесты NEOGENOMICS® измеряют количество несинонимических изменений в кодирующей последовательности ДНК на мегабазу секвенированной ДНК.

Тест ONCOMINE™ Tumor Mutation Load

В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием анализа мутаций в опухоли THERMOFISHER SCIENTIFIC® ONCOMINE™. В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием анализа мутаций в опухоли THERMOFISHER SCIENTIFIC® ION TORRENT™ ONCOMINE™. Анализ мутаций в опухоли ION TORRENT™ ONCOMINE™ представляет собой целевой анализ NGS, который количественно определяет соматические мутации для определения мутационной нагрузки опухоли. Анализ охватывает 1,7 Mb ДНК.

Тест NOVOGENE™ NOVOPM™

В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием теста NOVOGENE™ NOVOPM™. В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием анализа панели рака NOVOGENE™ NOVOPM™. Анализ панели рака NOVOGENE™ NOVOPM™ представляет собой комплексную панель рака NGS, которая анализирует полные кодирующие области 548 генов и интронов 21 гена, представляющих около 1,5 Mb ДНК, и которые имеют отношение к диагностике и/или лечению солидных опухолей в соответствии с рекомендациями Национальной комплексной онкологической сети (NCCN) и медицинской литературой. Анализ выявляет SNV, InDel, слияния и изменение количества копий (CNV).

Другие анализы TMB

В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием анализа TMB, предоставленного CARIS® Life Sciences. В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием анализа PESONALIS® ACE ImmunoID. В некоторых вариантах осуществления TMB определяют с использованием анализа PGDX® CANCERXOME™-R.

В еще одном конкретном варианте осуществления геномное профилирование обеспечивает выявление всех типов мутаций, то есть варианты одиночных нуклеотидов, вставки/делеции (индели), изменения количества копий и перестройки, например, транслокации, экспрессию и эпигенетические маркеры.

Комплексные генные панели часто содержат предварительно определенные гены, выбранные на основе типа опухоли, подлежащей анализу. Соответственно, геномный профиль, используемый для измерения статуса TMB, может быть выбран на основе типа опухоли, которую имеет субъект. В одном варианте осуществления геномный профиль может включать набор генов, специфических для солидной опухоли. В другом варианте осуществления геномный профиль может включать набор генов, специфических для гематологических злокачественных новообразований и сарком.

В одном варианте осуществления геномный профиль содержит один или несколько генов, выбранных из группы, состоящей из ABL1, BRAF, CHEK1, FANCC, GATA3, JAK2, MITF, PDCD1LG2, RBM10, STAT4, ABL2, BRCA1, CHEK2, FANCD2, GATA4, JAK3, MLH1, PDGFRA, RET, STK11, ACVR1B, BRCA2, C1C, FANCE, GATA6, JUN, MPL, PDGFRB, RICTOR, SUFU, AKT1, BRD4, CREBBP, FANCF, GID4 (C17orf39), KAT6A (MYST3), MRE11A, PDK1, RNF43, SYK, AKT2, BRIP1, CRKL, FANCG, GLI1, KDM5A, MSH2, PIK3C2B, ROS1, TAF1, AKT3, BTG1, CRLF2, FANCL, GNA11, KDM5C, MSH6, PIK3CA, RPTOR, TBX3, ALK, BTK, CSF1R, FAS, GNA13, KDM6A, MTOR, PIK3CB, RUNX1, TERC, AMER1 (FAM123B), C11orf30 (EMSY), CTCF, FAT1, GNAQ, KDR, MUTYH, PIK3CG, RUNX1T1, TERT (только промотор), APC, CARD11, CTNNA1, FBXW7, GNAS, KEAP1, MYC, PIK3R1, SDHA, TET2, AR, CBFB, CTNNB1, FGF10, GPR124, KEL, MYCL (MYCL1), PIK3R2, SDHB, TGFB2, ARAF, CBL, CUL3, FGF14, GRIN2A, KIT, MYCN, PLCG2, SDHC, TNFAIP3, ARFRP1, CCND1, CYLD, FGF19, GRM3, KLHL6, MYD88, PMS2, SDHD, TNFRSF14, ARID1A, CCND2, DAXX, FGF23, GSK3B, KMT2A (MLL), NF1, POLD1, SETD2, TOPI, ARID1B, CCND3, DDR2, FGF3, H3F3A, KMT2C (MLL3), NF2, POLE, SF3B1, TOP2A, ARID2, CCNE1, DICER1, FGF4, HGF, KMT2D (MLL2), NFE2L2, PPP2R1A, SLIT2, TP53, ASXL1, CD274, DNMT3A, FGF6, HNF1A, KRAS, NFKBIA, PRDM1, SMAD2, TSC1, ATM, CD79A, DOT1L, FGFR1, HRAS, LMO1, NKX2-1, PREX2, SMAD3, TSC2, ATR, CD79B, EGFR, FGFR2, HSD3B1, LRP1B, NOTCH1, PRKAR1A, SMAD4, TSHR, ATRX, CDC73, EP300, FGFR3, HSP90AA1, LYN, NOTCH2, PRKCI, SMARCA4, U2AF1, AURKA, CDH1, EPHA3, FGFR4, IDH1, LZTR1, NOTCH3, PRKDC, SMARCB1, VEGFA, AURKB, CDK12, EPHA5, FH, IDH2, MAGI2, NPM1, PRSS8, SMO, VHL, AXIN1, CDK4, EPHA7, FLCN, IGF1R, MAP2K1, NRAS, PTCH1, SNCAIP, WISP3, AXL, CDK6, EPHB1, FLT1, IGF2, MAP2K2, NSD1, PTEN, SOCS1, WT1, BAP1, CDK8, ERBB2, FLT3, IKBKE, MAP2K4, NTRK1, PTPN11, SOX10, XPO1, BARD1, CDKN1A, ERBB3, FLT4, IKZF1, MAP3K1, NTRK2, QKI, SOX2, ZBTB2, BCL2, CDKN1B, ERBB4, FOXL2, IL7R, MCL1, NTRK3, RAC1, SOX9, ZNF217, BCL2L1, CDKN2A, ERG, FOXP1, INHBA, MDM2, NUP93, RAD50, SPEN, ZNF703, BCL2L2, CDKN2B, ERFF1, FRS2, INPP4B, MDM4, PAK3, RAD51, SPOP, BCL6, CDKN2C, ESR1, FUBP1, IRF2, MED12, PALB2, RAF1, SPTA1,

BCOR, CEBPA, EZH2, GABRA6, IRF4, MEF2B, PARK2, RANBP2, SRC, BCORL1, CHD2, FAM46C, GATA1, IRS2, MEN1, PAX5, RARA, STAG2, BLM, CHD4, FANCA, GATA2, JAK1, MET, PBRM1, RB1, STAT3, и любую их комбинацию. В других вариантах осуществления анализ TMB, кроме того, включает идентификацию геномного изменения в одном или более из ETV4, TMPRSS2, ETV5, BCR, ETV1, ETV6 и MYB.

В другом варианте осуществления геномный профиль содержит один или более генов, выбранных из группы, состоящей из ABL1, 12B, ABL2, ACTB, ACVR1, ACVR1B, AGO2, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, ALOX, ALOX12B, AMER1, AMER1 (FAM123B or WTX), AMER1 (FAM123B), ANKRD11, APC, APH1A, AR, ARAF, ARFRP1, ARHGAP26 (GRAF), ARID1A, ARID1B, ARID2, ARID5B, ARV7, ASMTL, ASXL1, ASXL2, ATM, ATR, ATRX, AURKA, AURKB, AXIN1, AXIN2, AXL, B2M, BABAM1, BAP1, BARD1, BBC3, BCL10, BCL11B, BCL2, BCL2L1, BCL2L11, BCL2L2, BCL6, BCL7A, BCOR, BCORL1, BIRC3, BLM, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD4, BRIP1, BRIP1 (BACH1), BRSK1, BTG1, BTG2, BTK, BTLA, C11orf30 (EMSY), C11orf30, C11orf30 (EMSY), CAD, CALR, CARD11, CARM1, CASP8, CBF, CBL, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CCT6B, CD22, CD274, CD274 (PD-L1), CD276, CD36, CD58, CD70, CD79A, CD79B, CDC42, CDC73, CDH1, CDK12, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2Ap14ARF, CDKN2Ap16INK4A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CENPA, CHD2, CHD4, CHEK1, CHEK2, CIC, CIITA, CKS1B, CPS1, CREBBP, CRKL, CRLF2, CSDE1, CSF1R, CSF3R, CTCF, CTLA-4, CTNN B1, CTNNA1, CTNNB1, CUL3, CUL4A, CUX1, CXCR4, CYLD, CYP17A1, CYSLTR2, DAXX, DCUN1D1, DDR1, DDR2, DDX3X, DH2, DICER1, DIS3, DNAJB1, DNMT2, DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, DOT1L, DROSHA, DTX1, DUSP2, DUSP4, DUSP9, E2F3, EBF1, ECT2L, EED, EGFL7, EGFR, EIF1AX, EIF4A2, EIF4E, ELF3, ELP2, EML4, EML4-ALK, EP300, EPAS1, EPCAM, EPHA3, EPHA5, EPHA7, EPHB1, EPHB4, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ERF, ERG, ERFF1, ERFF1, ESR1, ETS1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, EXOSC6, EZH1, EZH2, FAF1, FAM175A, FAM46C, FAM58A, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FAS, FAS (TNFRSF6), FAT1, FBXO11, FBXO31, FBXW7, FGF1, FGF10, FGF12, FGF14, FGF19, FGF2, FGF23, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGF7, FGF8, FGF9, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FHIT, FLCN, FLI1, FLT1, FLT3, FLT4, FLYWCH1, FOXA1, FOXL2, FOXO1, FOXO3, FOXP1, FRS2, FUBP1, FYN, GABRA6, GADD45B, GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA6, GEN1, GID4 (C17orf39), GID4 (C17orf39), GLI1, GLI1, GNA11, GNA12, GNA13, GNAQ, GNAS, GPR124, GPS2, GREM1, GRIN2A, GRM3, GSK3B, GTSE1, H3F3A, H3F3B, H3F3C, HDAC1, HDAC4, HDAC7, Hedgehog, HER-2/NEU; ERBB2, HGF, HIST1H1C, HIST1H1D, HIST1H1E, HIST1H2AC, HIST1H2AG, HIST1H2AL, HIST1H2AM, HIST1H2BC, HIST1H2BD, HIST1H2BJ, HIST1H2BK, HIST1H2BO, HIST1H3A, HIST1H3B, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3E, HIST1H3F, HIST1H3G, HIST1H3H, HIST1H3I, HIST1H3J, HIST2H3C, HIST2H3D, HIST3H3, HLA-A, HLA-B, HNF1A, HOXB13, HRAS, HSD3B1, HSP90AA1, ICK, ICOSLG, ID3, IDH1, IDH2, IFNGR1, IGF1, IGF1R, IGF2, IKBKE, IKZF1, IKZF2, IKZF3, IL10, IL7R, INHA, INHBA, INPP4A, INPP4B, INPP5D (SHIP), INPPL1, INSR, IRF1, IRF2, IRF4, IRF8, IRF8, IRS1, IRS2, JAK1, JAK2, JAK3, JARID2, JUN, K14, KAT6A (MYST 3), KAT6A (MYST3), KDM2B, KDM4C, KDM5A, KDM5C, KDM6A, KDR, KEAP1, KEL, KIF5B, KIT, KLF4, KLHL6, KMT2A, KMT2A (MLL), KMT2B, KMT2C, KMT2C (MLL3), KMT2D, KMT2D (MLL2), KNSTRN, KRAS, LAMP1, LATS1, LATS2, LEF1, LM01, LRP1B, LRRK2, LTK, LYN, LZTR1, MAF, MAFB, MAGED1, MAGI2, MALT1, MAP2K1, MAP2K1 (MEK1), MAP2K2, MAP2K2 (MEK2), MAP2K4, MAP3, MAP3K1, MAP3K13, MAP3K14, MAP3K6, MAP3K7, MAPK1, MAPK3, MAPKAP1, MAX, MCL1, MDC1, MDM2, MDM4, MED12, MEF2B, MEF2C, MEK1, MEN1, MERTK, MET, MGA, MIB1, MITF, MKI67, MKNK1, MLH1, MLLT3, MPL, MRE 11A, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MSI1, MSI2, MST1, MST1R, MTAP, MTOR, MUTYH, MYC, MYCL, MYCL (MYC L1), MYCL (MYCL1), MYCL1, MYCN, MYD88, MYO18A, MYOD1, NBN, NCOA3, NCOR1, NCOR2, NCSTN, NEGR1, NF1, NF2, NFE2L2, NFKBIA, NKX2-1, NKX3-1, NOD1, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NPM1, NRAS, NRG1, NSD1, NT5C2, NTHL1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUF2, NUP93, NUP98, P2RY8, PAG1, PAK1, PAK3, PAK7, PALB2, PARK2, PARP1, PARP2, PARP3, PASK, PAX3, PAX5, PAX7, PBRM1, PC, PCBP1, PCLO, PDCD1, PDCD1 (PD-1), PDCD11, PDCD1LG2, PDCD1LG2 (PD-L2), PDGFRA, PDGFRB, PDK1, PDPK1, PGR, PHF6, PHOX2B, PIK3C2B, PIK3C2G, PIK3C3, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, PIK3R3, PIM1, PLCG2, PLK2, PMAIP1, PMS1, PMS2, PNRC1, POLD1, POLE, POT1, PPARG, PPM1D, PPP2, PPP2R1A, PPP2R2A, PPP4R2, PPP6C, PRDM1, PRDM14, PREX2, PRKAR1A, PRKCI, PRKD1, PRKDC, PRSS8, PTCH1, PTEN, PTP4A1, PTPN11, PTPN2, PTPN6 (SHP-1), PTPRD, PTPRO, PTPRS, PTPRT, QKL, R1A, RAB35, RAC1, RAC2, RAD21, RAD50, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD52, RAD54L, RAF1, RANBP2, RARA, RASA1, RASGEF1A, RBI, RBM10, RECQL, RECQL4, REL, RELN, RET, RFWD2, RHEB, RHOA, RICTOR, RIT1, RNF43, R0S1, RPS6KA4, RPS6KB1, RPS6KB2, RPTOR, RRAGC, RRAS, RRAS2, RTEL1, RUNX1, RUNX1T1, RXRA, RYBP, S1PR2, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SERP2, SESN1, SESN2, SESN3, SETBP1, SETD2, SETD8, SF3B1, SGK1, SH2B3, SH2D1A, SHOC2, SHQ1, SLIT2, SLX4, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMARCA1, SMARCA4, SMARCB1, SMARCD1, SMC1A, SMC3, SMO, SMYD3, SNCAIP, SOCS1, SOCS2, SOCS3, SOS1, SOX10, SOX17, SOX2, SOX9, SPEN, SPOP, SPRED1, SPTA1, SRC, SRSF2, STAG2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT6, STK11, STK19, STK40, SUFU, SUZ12, SYK, TAF1, TAP1, TAP2, TBL1XR1, TBX3,

PRKCI, PRKD1, PRKDC, PRSS8, PTCH1, PTEN, PTP4A1, PTPN11, PTPN2, PTPN6 (SHP-1), PTPRD, PTPRO, PTPRS, PTPRT, QKI, R1A, RAB35, RAC1, RAC2, RAD21, RAD50, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD52, RAD54L, RAF1, RANBP2, RARA, RASA1, RASGEF1A, RB1, RBM10, RECQL, RECQL4, REL, RELN, RET, RFWD2, RHEB, RHOA, RICTOR, RIT1, RNF43, ROS1, RPS6KA4, RPS6KB1, RPS6KB2, RPTOR, RRAGC, RRAS, RRAS2, RTEL1, RUNX1, RUNX1T1, RXRA, RYBP, S1PR2, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SERP2, SESN1, SESN2, SESN3, SETBP1, SETD2, SETD8, SF3B1, SGK1, SH2B3, SH2D1A, SHOC2, SHQ1, SLIT2, SLX4, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMARCA1, SMARCA4, SMARCB1, SMARCD1, SMC1A, SMC3, SMO, SMYD3, SNCAIP, SOCS1, SOCS2, SOCS3, SOS1, SOX10, SOX17, SOX2, SOX9, SPEN, SPOP, SPRED1, SPTA1, SRC, SRSF2, STAG2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT6, STK11, STK19, STK40, SUFU, SUZ12, SYK, TAF1, TAP1, TAP2, TBL1XR1, TBX3, TCEB1, TCF3, TCF3 (E2A), TCF7L2, TCL1A (TCL1), TEK, TERC, TERT, TERT промотор, TET1, TET2, TFRC, TGFBR1, TGFBR2, TIPARP, TLL2, TMEM127, TMEM30A, TMPRSS2, TMSB4XP8 (TMSL3), TNFAIP3, TNFRSF11A, TNFRSF14, TNFRSF17, TOP1, TOP2A, TP53, TP53BP1, TP63, TRAF2, TRAF3, TRAF5, TRAF7, TSC1, TSC2, TSHR, TUSC3, TYK2, TYRO3, U2AF1, U2AF2, UPF1, VEGFA, VHL, VTCN1, WDR90, WHSC1, WHSC1 (MMSET or NSD2), WHSC1L1, WISP3, WT1, WWTR1, XBP1, XIAP, XPO1, XRCC2, YAP1, YES1, YY1AP1, ZBTB2, ZFH3, ZMYM3, ZNF217, ZNF24 (ZSCAN3), ZNF703, ZRSR2 и любой их комбинации.

В другом варианте осуществления геномный профиль содержит один или более генов, выбранных из генов, указанных в табл. 2-17.

В одном варианте осуществления статус ТМВ, основанный на геномном профилировании, высоко коррелирует со статусом ТМВ, основанном на полноэкзомном или полногеномном секвенировании. Приведенные здесь данные показывают, что использование анализов геномного профилирования, таких как анализ FICDx, имеет конкордантность с анализами полноэкзомного и/или полногеномного секвенирования. Эти данные подтверждают использование анализов геномного профилирования в качестве более эффективного средства для измерения статуса ТМВ, не утрачивая прогностических качеств статуса ТМВ.

ТМВ может быть измерена с использованием образца ткани, полученного путем биопсии, или, альтернативно, циркулирующей опухолевой ДНК (ctDNA), cfDNA (бесклеточной ДНК) и/или образца жидкой биопсии. ctDNA можно использовать для измерения статуса ТМВ в соответствии с полноэкзомным или полногеномным секвенированием или геномным профилированием с использованием доступных методик, например, GRAIL, Inc.

Субъекта идентифицируют как подходящего для иммунотерапии, например, с помощью анти-PD-1 антитела или его антигенсвязывающей части, или анти-PD-L1 антитела или его антигенсвязывающей части, на основании измерения статуса ТМВ и идентификации высокой ТМВ. В некоторых вариантах осуществления показатель ТМВ рассчитывают в виде общего количества несинонимических миссен-мутаций в опухоли, как измерено с помощью полноэкзомного секвенирования или полногеномного секвенирования. В одном варианте осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 210, по меньшей мере 215, по меньшей мере 220, по меньшей мере 225, по меньшей мере 230, по меньшей мере 235, по меньшей мере 240, по меньшей мере 245, по меньшей мере 250, по меньшей мере 255 по меньшей мере 260, по меньшей мере 265, по меньшей мере 270, по меньшей мере 275, по меньшей мере 280, по меньшей мере 285, по меньшей мере 290, по меньшей мере 295, по меньшей мере 300, по меньшей мере 305, по меньшей мере 310, по меньшей мере 315, при минимум 320, минимум 325, минимум 330, минимум 335, минимум 340, минимум 345, минимум 350, минимум 355, минимум 360, минимум 365, минимум 370, минимум 375, минимум 380 по меньшей мере 385, по меньшей мере 390, по меньшей мере 395, по меньшей мере 400, по меньшей мере 405, по меньшей мере 410, по меньшей мере 415, по меньшей мере 420, по меньшей мере 425, по меньшей мере 430, по меньшей мере 435, по меньшей мере 440, при по меньшей мере 445, по меньшей мере 450, по меньшей мере 455, по меньшей мере 460, по меньшей мере 465, по меньшей мере 470, по меньшей мере 475, по меньшей мере 480, по меньшей мере 485, по меньшей мере 490, по меньшей мере 495 или по меньшей мере 500. В другом варианте осуществления высокая ТМВ имеет показатель, равный по меньшей мере 215, по меньшей мере 220, по меньшей мере 221, по меньшей мере 222, по меньшей мере 223, по меньшей мере 224, по меньшей мере 225, по меньшей мере 226, по меньшей мере 227, по меньшей мере 228, по меньшей мере 229, по меньшей мере 230, по меньшей мере 231, по меньшей мере 232, по меньшей мере 233, по меньшей мере 234, по меньшей мере 235, по меньшей мере 236 по меньшей мере 237, по меньшей мере 238, по меньшей мере 239, по меньшей мере 240, по меньшей мере 241, по меньшей мере 242, по меньшей мере 243, по меньшей мере 244, по меньшей мере 245, по меньшей мере 246, по меньшей мере 247, по меньшей мере 248, при по меньшей мере 249 или по меньшей мере 250. В конкретном варианте осуществления высокая ТМВ имеет показатель, равный по меньшей мере 243. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 244. В некоторых вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 245. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 246. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 247. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 248. В

других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 249. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный по меньшей мере 250. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный любому целому числу в диапазоне от 200 до 300 или выше. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный любому целому числу в диапазоне от 210 до 290 или выше. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный любому целому числу в диапазоне от 220 до 280 или выше. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный любому целому числу в диапазоне от 230 до 270 или выше. В других вариантах осуществления высокая ТМВ имеет балл, равный любому целому числу в диапазоне от 235 до 265 или выше.

Альтернативно, высокая ТМВ может представлять собой относительное значение, а не абсолютное значение. В некоторых вариантах осуществления статус ТМВ субъекта сравнивается с эталонным значением ТМВ. В одном варианте осуществления статус ТМВ субъекта находится в пределах наивысшего квантиля эталонного значения ТМВ. В другом варианте осуществления статус ТМВ субъекта находится в пределах верхнего тертиля эталонного значения ТМВ.

В некоторых вариантах осуществления статус ТМВ выражается в виде количества мутаций на образец, на клетку, на экзом или на длину ДНК (например, Mb). В некоторых вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 50 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 55 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 60 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 65 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 70 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 75 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 80 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 85 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 90 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 95 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 100 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 105 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 110 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 115 мутаций/опухоль или по меньшей мере около 120 мутаций/опухоль. В некоторых вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 125 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 150 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 175 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 200 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 225 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 250 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 275 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 300 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 350 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 400 мутаций/опухоль или по меньшей мере около 500 мутаций/опухоль. В одном конкретном варианте осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 100 мутаций/опухоль.

В некоторых вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 5 мутаций на мегабазу генов, например геном, секвенированный в соответствии с анализом ТМВ, например геном, секвенированный в соответствии с тестом FOUNDATIONONE® CDX™, (мутации/Mb), по меньшей мере около 6 мутаций/Mb, по меньшей мере около 7 мутаций/Mb, по меньшей мере около 8 мутаций/Mb, по меньшей мере около 9 мутаций/Mb, по меньшей мере около 10 мутаций/Mb, по меньшей мере около 11 мутаций/Mb, по меньшей мере около 12 мутаций/Mb, по меньшей мере около 13 мутаций/Mb, по меньшей мере около 14 мутаций/Mb, по меньшей мере около 15 мутаций/Mb, по меньшей мере около 20 мутаций/Mb, по меньшей мере около 25 мутаций/Mb, по меньшей мере около 30 мутаций/Mb, по меньшей мере около 35 мутаций/Mb, по меньшей мере около 40 мутаций/Mb, по меньшей мере около 45 мутаций/Mb, по меньшей мере около 50 мутаций/Mb, по меньшей мере около 75 мутаций/Mb или по меньшей мере около 100 мутаций/Mb. В определенных вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 5 мутаций/Mb. В определенных вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 10 мутаций/Mb. В некоторых вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 11 мутаций/Mb. В некоторых вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 12 мутаций/Mb. В некоторых вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 13 мутаций/Mb. В некоторых вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 14 мутаций/Mb. В определенных вариантах осуществления опухоль имеет высокий статус ТМВ, если опухоль имеет по меньшей мере около 15 мутаций/Mb.

Поскольку количество мутаций варьируется в зависимости от типа опухоли и других способов (см. Q4 и Q5), значения, связанные с "высокой ТМВ" и "низкой ТМВ", могут различаться в зависимости от типа опухоли.

Статус PD-L1

Статус ТМВ можно использовать отдельно или в комбинации с другими факторами в качестве средств для прогнозирования ответа опухоли на терапию и, в частности, лечения иммуноонкологическим агентом, таким как анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело. В некоторых вариантах осуществления только статус ТМВ опухоли используют для идентификации пациентов с опухолью, которая с большей

вероятностью будет отвечать на иммунотерапию, например, с помощью анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела. В других вариантах осуществления статус PD-L1 и статус ТМВ используют для идентификации пациентов с опухолью, которая с большей вероятностью будет отвечать на иммунотерапию, например, анти-PD-1 антителом или анти-PD-L1 антителом.

Статус PD-L1 опухоли у субъекта может быть измерен до введения любой композиции или использования любого способа, раскрытого в настоящем документе. Экспрессия PD-L1 может быть определена с помощью любых способов, известных в данной области.

Для оценки экспрессии PD-L1, в одном варианте осуществления, тестируемый образец ткани может быть получен от пациента, нуждающегося в терапии. В другом варианте осуществления оценка экспрессии PD-L1 может быть достигнута без получения тестируемого образца ткани. В некоторых вариантах осуществления выбор подходящего пациента включает (i) необязательное обеспечение тестируемого образца ткани, полученного от пациента с раком ткани, причем тестируемый образец ткани содержит опухолевые клетки и/или инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки; и (ii) оценку доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности, на основе определения того, что доля клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности, превышает предварительно заданный пороговый уровень.

Однако в любом из способов, включающих измерение экспрессии PD-L1 в тестируемом образце ткани, следует понимать, что стадия, включающая обеспечение тестируемого образца ткани, полученного от пациента, является необязательной стадией. Следует также понимать, что в определенных вариантах осуществления стадию "измерения" или "оценки" для идентификации или определения количества или доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности, выполняют трансформационным методом анализа экспрессии PD-L1, например, путем выполнения анализа с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (RT-PCR) или анализа ИНС. В некоторых других вариантах осуществления трансформационная стадия не включена, и экспрессию PD-L1 оценивают, например, путем просмотра отчета о результатах теста из лаборатории. В некоторых вариантах осуществления стадии способов, включающие оценку экспрессии PD-L1, обеспечивают промежуточный результат, который может быть предоставлен врачу или другому медицинскому работнику для использования в выборе подходящего кандидата для терапии анти-PD-1 антителом или анти-PD-L1 антителом. В некоторых вариантах осуществления стадии, которые обеспечивают промежуточный результат, выполняются практикующим врачом или лицом, действующим под руководством практикующего врача. В других вариантах осуществления эти стадии выполняются независимой лабораторией или независимым лицом, таким как лаборант.

В некоторых вариантах осуществления любого из настоящих способов долю клеток, экспрессирующих PD-L1, оценивают путем выполнения анализа для определения присутствия РНК PD-L1. В других вариантах осуществления присутствие РНК PD-L1 определяют с помощью RT-PCR, гибридизации *in situ* или защиты от РНКазы. В других вариантах осуществления долю клеток, которые экспрессируют PD-L1, оценивают путем выполнения анализа для определения присутствия полипептида PD-L1. В других вариантах осуществления присутствие полипептида PD-L1 определяют с помощью иммуногистохимического анализа (ИНС), энзим-связанного иммуносорбентного анализа (ELISA), визуализации *in vivo* или проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления экспрессию PD-L1 анализируют с помощью ИНС. В других вариантах осуществления всех этих способов экспрессию PD-L1 на клеточной поверхности анализируют с использованием, например, ИНС или визуализации *in vivo*.

Методы визуализации обеспечили важные инструменты в исследовании и лечении рака. Последние разработки в области систем молекулярной визуализации, включая позитронную эмиссионную томографию (PET), однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (SPECT), флуоресцентную отражательную визуализацию (FRI), флуоресцентную томографию (FMT), биоломинесцентную визуализацию (БИ), конфокальную лазерную сканирующую микроскопию (LSCM) и многофотонную микроскопию (MPM), по всей вероятности будут предвещать еще более широкое применение этих методов в исследованиях рака. Некоторые из этих систем молекулярной визуализации позволяют клиницистам не только видеть, где находится опухоль в организме, но также визуализировать экспрессию и активность определенных молекул, клеток и биологических процессов, которые влияют на поведение опухоли и/или отвечают на терапевтические лекарственные средства (Condeelis and Weissleder, "In vivo imaging in cancer," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2(72):a003848 (2010)). Специфичность антител в сочетании с чувствительностью и разрешением PET делает иммуно-PET визуализацию особенно привлекательной для мониторинга и анализа экспрессии антигенов в образцах тканей (McCabe and Wu, "Positive progress in immunoPET - not just a coincidence," *Cancer Biother. Radiopharm.* 25(3):253-61 (2010); Olafsen et al., "ImmunoPET imaging of B-cell lymphoma using 124I-anti-CD20 scFv dimers (diabodies)," *Protein Eng. Des. Sel.* 23(4):243-9 (2010)). В определенных вариантах осуществления любого из настоящих способов экспрессию PD-L1 анализируют с помощью иммуно-PET визуализации. В некоторых вариантах осуществления любого из настоящих способов долю клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют PD-L1, оценивают путем проведения анализа для определения присутствия полипептида PD-L1 на клеточной поверхности в тестируемом образце ткани. В определенных вариантах осуществления тестируемый

образец ткани представляет собой FFPE образец ткани. В других вариантах осуществления присутствие полипептида PD-L1 определяют с помощью анализа ИНС. В других вариантах осуществления анализ ИНС выполняют с использованием автоматизированного процесса. В некоторых вариантах осуществления анализ ИНС выполняют с использованием моноклонального антитела против PD-L1 для связывания с полипептидом PD-L1. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело против PD-L1 выбрано из группы, состоящей из 28-8, 28-1, 28-12, 29-8, 5H1 и любой их комбинации. См. WO/2013/173223, которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки.

В одном варианте осуществления настоящих способов автоматизированный способ ИНС используют для анализа экспрессии PD-L1 на клеточной поверхности клеток в FFPE образцах тканей. Присутствие человеческого антигена PD-L1 можно измерить в тестируемом образце ткани путем приведения в контакт тестируемого образца и отрицательного контрольного образца (например, нормальной ткани) с моноклональным антителом, которое специфически связывается с PD-L1 человека, в условиях, которые позволяют образовывать комплекс между антителом или его частью и человеческим PD-L1. В определенных вариантах осуществления образцы тестируемой и контрольной ткани представляют собой FFPE образцы. Затем детектируют образование комплекса, причем различие в образовании комплекса между тестируемым образцом и отрицательным контрольным образцом указывает на присутствие в образце антигена PD-L1 человека. Различные способы используют для количественной оценки экспрессии PD-L1.

В конкретном варианте осуществления автоматизированный способ ИНС включает: (a) депарафинизацию и дегидратацию монтированных срезов ткани в автостейнере; (b) извлечение антигена с использованием камеры Decloaking Chamber и буфера с pH 6, с нагреванием до 110°C в течение 10 мин; (c) установку реагентов в автостейнер; и (d) функционирование автостейнера включает стадии нейтрализации эндогенной пероксидазы в образце ткани; блокирование неспецифических белок-связывающих участков на предметных стеклах; инкубацию предметных стекол с первичным антителом; инкубацию с пост-первичным блокирующим агентом; инкубацию с NovoLink Polymer; добавление хромогенного субстрата и проявление; и контрокрашивание гематоксилином.

Для оценки экспрессии PD-L1 в образцах опухолевой ткани патолог изучает количество PD-L1+ опухолевых клеток на мембране в каждом поле под микроскопом и мысленно оценивает процент клеток, которые являются положительными, затем усредняет их с получением окончательного процента. Различные интенсивности окрашивания определяют как 0/отрицательное, 1+/слабое, 2+/умеренное и 3+/сильное. Как правило, процентные значения сначала присваиваются категориям 0 и 3+, а затем рассматриваются промежуточные интенсивности 1+ и 2+. Для высоко гетерогенных тканей образец делится на зоны, и каждую зону оценивают отдельно, а затем объединяют в единый набор процентных значений. Процентное содержание отрицательных и положительных клеток для разных интенсивностей окрашивания определяют для каждой области, и медианное значение присваивается каждой зоне. Окончательное процентное значение дается ткани для каждой категории интенсивности окрашивания: отрицательное, 1+, 2+ и 3+. Сумма всех интенсивностей окрашивания должна составлять 100%. В одном варианте осуществления пороговое количество клеток, которое должно быть положительным по PD-L1, составляет по меньшей мере около 100, по меньшей мере около 125, по меньшей мере около 150, по меньшей мере около 175 или по меньшей мере около 200 клеток. В некоторых вариантах осуществления пороговое количество клеток, которые должны быть положительными по PD-L1, составляет по меньшей мере около 100 клеток.

Окрашивание также оценивают в опухоль-инфильтрирующих воспалительных клетках, таких как макрофаги и лимфоциты. В большинстве случаев макрофаги служат в качестве внутреннего положительного контроля, так как окрашивание наблюдается в значительной части макрофагов. Хотя не требуется окрашивать с интенсивностью 3+, необходимо учитывать отсутствие окрашивания макрофагов, чтобы исключить любую техническую ошибку. Макрофаги и лимфоциты оценивают на окрашивание плазматической мембраны и лишь фиксируют для всех образцов как положительные или отрицательные для каждой категории клеток. Окрашивание также характеризуют в соответствии с расположением иммунных клеток снаружи/внутри опухоли. "Внутри" означает, что иммунная клетка находится в пределах опухолевой ткани и/или на границах опухолевой области без физического интеркалирования между опухолевыми клетками. "Снаружи" означает, что отсутствует физическая связь с опухолью, иммунные клетки обнаруживаются на периферии, связанной с соединительной или любой ассоциированной соседней тканью.

В определенных вариантах осуществления этих методов оценки, образцы оценивают два патолога, работающие независимо, и результаты оценки затем объединяют. В некоторых других вариантах осуществления идентификацию положительных и отрицательных клеток проводят с использованием соответствующего программного обеспечения.

Метод гисто-счета HistoScore используют в качестве еще одного количественного показателя данных ИНС. HistoScore рассчитывают следующим образом: $\text{HistoScore} = [(\% \text{ опухоли} \times 1 \text{ (низкая интенсивность)}) + (\% \text{ опухоли} \times 2 \text{ (средняя интенсивность)}) + (\% \text{ опухоли} \times 3 \text{ (высокая интенсивность)})]$

Для определения HistoScore патолог оценивает процент окрашенных клеток в каждой категории интенсивности в пределах образца. Поскольку экспрессия большинства биомаркеров неоднородна, HistoScore является более достоверным отражением общей экспрессии. Конечный диапазон HistoScore составляет от 0 (нет экспрессии) до 300 (максимальная экспрессия).

Альтернативными способами количественной оценки экспрессии PD-L1 в тестируемом образце ткани ИНС являются определение скорректированного балла воспаления (AIS), определяемого как плотность воспаления, умноженная на процент экспрессии PD-L1 опухоль-инфильтрирующими воспалительными клетками (Taube et al., "Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape," *Sci. Transl. Med.* 4(127): 127ra37 (2012)).

В одном варианте осуществления уровень экспрессии PD-L1 в опухоли составляет по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 11%, по меньшей мере около 12%, по меньшей мере около 13%, по меньшей мере около 14%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70% при по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере, около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или около 100%. В другом варианте осуществления статус PD-L1 опухоли составляет по меньшей мере около 1%. В других вариантах осуществления статус PD-L1 субъекта составляет по меньшей мере около 5%. В определенном варианте осуществления статус PD-L1 опухоли составляет по меньшей мере около 10%. В одном варианте осуществления статус PD-L1 опухоли составляет по меньшей мере около 25%. В конкретном варианте осуществления статус PD-L1 опухоли составляет по меньшей мере около 50%.

Выражение "PD-L1-положительная", как используется в настоящем документе, может быть взаимозаменяемо использовано с выражением "экспрессия PD-L1, составляющей по меньшей мере около 1%". В одном варианте осуществления PD-L1-положительные опухоли могут, таким образом, иметь по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или около 100% опухолевых клеток, экспрессирующих PD-L1, как измерено с помощью автоматизированной ИНС. В некоторых вариантах осуществления выражение "PD-L1-положительная" означает, что существует по меньшей мере 100 клеток, которые экспрессируют PD-L1 на поверхности клеток.

В одном варианте осуществления PD-L1-положительная опухоль с высокой ТМВ имеет более высокую вероятность ответа на терапию анти-PD-1 антителом, чем опухоль, характеризующаяся только высокой ТМВ, только положительной экспрессией PD-L1 или ни тем, ни другим. В одном варианте осуществления опухоль характеризуется экспрессией PD-L1, составляющей по меньшей мере около 1%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45% или около 50%. В конкретном варианте осуществления опухоль с $\geq 50\%$ -ной экспрессией PD-L1 и высоким статусом ТМВ с большей вероятностью будет отвечать на терапию анти-PD-1 антителом, чем опухоль, имеющая только высокую ТМВ, только с $\geq 50\%$ -ную экспрессию PD-L1 или ни то, ни другое.

В определенных вариантах осуществления опухоль у субъекта, подходящего для иммунотерапии, например, лечения анти-PD-1 антителом, в данном изобретении не экспрессирует PD-L1 (менее 1%, менее 2%, менее чем 3%, менее 4% или менее 5% мембранного PD-L1). В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению не связаны с экспрессией PD-L1.

Статус MSI

Статус ТМВ можно использовать отдельно или в сочетании с другими факторами, например, статусом MSI, в качестве средства для прогнозирования ответа опухоли на терапию и, в частности, лечения иммуноонкологическим агентом, таким как анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело. В одном варианте осуществления статус MSI является частью статуса ТМВ. В других вариантах осуществления статус MSI измеряется отдельно от статуса ТМВ.

Микросателлитная нестабильность представляет собой состояние генетической гипермутируемости, которое возникает в результате нарушения системы репарации ошибочно спаренных оснований ДНК (MMR). Наличие MSI является фенотипическим свидетельством того, что MMR не функционирует нормально. В большинстве случаев генетической основой нестабильности при опухолях MSI является наследственное изменение зародышевой линии в любом из пяти человеческих генов MMR: MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 и PMS1. В определенных вариантах осуществления субъект, получающий лечение против опухоли (например, опухоли толстой кишки), имеет высокую степень микросателлитной нестабильности (MSI-H) и имеет по меньшей мере одну мутацию в генах MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 или

PMS1. В других вариантах осуществления субъекты, получающие лечение против опухоли в контрольной группе, не имеют микросателлитной нестабильности (стабильной MSS или MSI) и не имеют мутаций в генах MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 и PMS1.

В одном варианте осуществления субъект, подходящий для иммунотерапии, имеет высокий статус ТМВ и опухоль MSI-H. Используемый в настоящем документе термин "опухоль MSI-H" означает опухоли, имеющие более чем по меньшей мере около 30% нестабильных биомаркеров MSI. В некоторых вариантах осуществления опухоль происходит из колоректального рака. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой колоректальный рак с MSI-H, когда изменение зародышевой линии обнаруживается по меньшей мере в двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех или по меньшей мере пяти генах MMR. В других вариантах осуществления опухоль представляет собой колоректальный рак с MSI-H, когда изменение зародышевой линии обнаруживается по меньшей мере в 30% из пяти или более генов MMR. В некоторых вариантах осуществления изменение зародышевой линии в генах MMR измеряют с помощью полимеразной цепной реакции. В других вариантах осуществления опухоль представляет собой колоректальный рак с MSI-H, когда по меньшей мере один белок, кодируемый генами ДНК-MMR, не обнаруживается в опухоли. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один белок, кодируемый генами ДНК MMR, обнаруживается с помощью иммуногистохимического анализа.

Способы лечения согласно изобретению

Настоящее раскрытие относится к способу лечения субъекта, пораженного опухолью, имеющей статус высокой мутационной нагрузки опухоли (ТМВ), включающему проведение у субъекта иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение субъекта, пораженного опухолью, имеющей высокий статус ТМВ, включающее введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывает белок, выбранный из группы, состоящей из PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, MICA, CD137, KIR, TGF β , IL-10, IL-8, B7-H4, лиганд Fas, CXCR4, мезотелин, CD27, GITR и любых их комбинаций. В определенных вариантах осуществления способ включает лечение субъекта, пораженного опухолью, имеющей высокий статус ТМВ, включающее введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывает PD-1 или PD-L1.

Некоторые типы рака имеют более высокую частоту мутаций и, следовательно, имеют высокую ТМВ. (Alexandrov et al., Nature (2013) 500:415-421.) Неограничивающие примеры раковых заболеваний с высокой ТМВ включают меланому, рак легкого, мочевого пузыря и рак желудочно-кишечного тракта. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой рак легкого. В одном варианте осуществления рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC). В одном варианте осуществления NSCLC имеет плоскоклеточную гистологию. В другом варианте осуществления NSCLC имеет неплоскоклеточную гистологию. В других вариантах осуществления опухоль выбрана из почечно-клеточной карциномы, рака яичника, колоректального рака, рака желудочно-кишечного тракта, рака пищевода, рака мочевого пузыря, рака легкого и меланомы. Следует понимать, что способы, раскрытые в настоящем документе, охватывают солидные опухоли, а также рак крови.

Способы лечения, раскрытые в настоящем документе, могут обеспечить улучшенный клинический ответ и/или клиническую пользу для субъектов, пораженных опухолью, и, в частности, субъектов, имеющих опухоль с высокой ТМВ. Высокая ТМВ может быть связана с неоантигенной нагрузкой, то есть с количеством неоантигенов и реактивностью Т-клеток и, таким образом, с иммуноопосредованным противоопухолевым ответом. Соответственно, высокая ТМВ является фактором, который можно использовать отдельно или в сочетании с другими факторами для идентификации опухолей (и пациентов, имеющих такие опухоли), которые с большей вероятностью получают благоприятный эффект от терапии анти-PD-1 антителом и/или анти-PD-L1 антителом, например, по сравнению с современным стандартом лечения.

В одном варианте осуществления субъект демонстрирует выживаемость без прогрессирования, составляющую по меньшей мере около одного месяца, по меньшей мере около 2 месяцев, по меньшей мере около 3 месяцев, по меньшей мере около 4 месяцев, по меньшей мере около 5 месяцев, по меньшей мере около 6 месяцев по меньшей мере около 7 месяцев, по меньшей мере около 8 месяцев, по меньшей мере около 9 месяцев, по меньшей мере около 10 месяцев, по меньшей мере около 11 месяцев, по меньшей мере около одного года, по меньшей мере около восемнадцати месяцев, по меньшей мере около двух лет, по меньшей мере около трех лет, по меньшей мере около четырех лет или по меньшей мере около пяти лет после введения. В другом варианте осуществления субъект демонстрирует общую выживаемость, составляющую по меньшей мере около одного месяца, по меньшей мере около 2 месяцев, по меньшей мере около 3 месяцев, по меньшей мере около 4 месяцев, по меньшей мере около 5 месяцев, по меньшей мере около 6 месяцев, по меньшей мере около 7 месяцев, по меньшей мере около 8 месяцев, по меньшей мере около 9 месяцев, по меньшей мере около 10 месяцев, по меньшей мере около 11 месяцев, по меньшей мере около одного года, по меньшей мере около 18 месяцев, по меньшей мере около двух лет, по меньшей мере около трех лет, по меньшей мере около четырех лет или по меньшей мере около пяти лет после введения. В еще одном варианте осуществления субъект демонстрирует частоту объективного от-

вета, составляющую по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70% около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%.

Лечение анти-PD-1/анти-PD-L1 антителами

Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к способу лечения субъекта, пораженного опухолью, имеющей статус высокой мутационной нагрузки (ТМВ), включающему проведение у субъекта иммунотерапии, при этом иммунотерапия включает анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело. Способ может, кроме того, включать измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта. Кроме того, настоящее изобретение предусматривает введение анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела субъекту, идентифицированному как подходящий для такой терапии, например, на основании измерения высокой ТМВ.

В одном варианте осуществления анти-PD-1 антитело перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с человеческим PD-1. В другом варианте осуществления анти-PD-1 антитело связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В конкретном варианте осуществления анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. В другом конкретном варианте осуществления анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб. Дополнительные анти-PD-1 антитела описаны в настоящем документе в другом месте. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитела, полезные для изобретения, раскрыты в настоящем документе в другом месте. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело может заменять анти-PD-1 антитело. Иллюстративные анти-PD-L1 антитела, используемые для способов по настоящему изобретению, описаны в настоящем документе в другом месте.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое антитело или его антигенсвязывающую часть. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело содержит константную область тяжелой цепи изотипа человеческого IgG1 или изотипа человеческого IgG4.

Анти-PD-1 антитела, полезные для изобретения

Анти-PD-1 антитела, известные в данной области, могут быть использованы в описанных в настоящем документе композициях и способах. Различные человеческие моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-1 с высокой аффинностью, были раскрыты в патенте США №8008449. Было показано, что человеческие анти-PD-1 антитела, раскрытые в патенте США №8008449, демонстрируют одну или несколько из следующих характеристик: (a) связываются с человеческим PD-1 с K_D 1×10^{-7} М или менее, как определено поверхностным плазмонным резонансом с использованием биосенсорной системы ViaSage; (b) практически не связываются с CD28, CTLA-4 или ICOS человека; (c) увеличивают пролиферацию Т-клеток в анализе реакции лимфоцитов в смешанной культуре (MLR); (d) увеличивает продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (e) увеличивают секрецию интерлейкина-2 (IL-2) в анализе MLR; (f) связываются с PD-1 человека и PD-1 яванского макака; (g) ингибируют связывание PD-L1 и/или PD-L2 с PD-1; (h) стимулируют антигенспецифические ответные реакции памяти; (i) стимулируют ответные реакции антител и (j) ингибируют рост опухолевых клеток *in vivo*. Анти-PD-1 антитела, используемые в настоящем изобретении, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и проявляют по меньшей мере одну, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере пять из вышеперечисленных характеристик.

Другие анти-PD-1 моноклональные антитела описаны, например, в патентах США 6808710, 7488802, 8168757 и 8354509, публикации США 2016/0272708 и публикациях PCT WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540, полное содержание каждой из которых включено в настоящий документ путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело выбрано из группы, состоящей из ниволумаба (также известного как OPDIVO®, 5C4, BMS-936558, MDX-1106 и ONO-4538), пембролизумаба (Merck; также известного как KEYTRUDA®, ламбролизумаба и MK-3475; см. WO 2008/156712), PDR001 (Novartis; см. WO 2015/112900), MEDI-0680 (AstraZeneca; также известный как AMP-514; см. WO 2012/145493), цемиплимаба (Regeneron; также известный как REGN-2810; см. WO 2015/112800), JS001 (TAIZHOU JUNSHI PHARMA; см. Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 70:136 (2017)), BGB-A317 (Beigene; см. WO 2015/35606 и US 2015/0079109), INCSHR1210 (Jiangsu Hengrui Medicine; также известный как SHR-1210; см. WO 2015/085847; Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)), TSR-042 (Tesarо Biopharmaceutical; также известный как ANB011; см. WO 2014/179664), GLS-010 (Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals; также известный как WBP3055; см. Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)), AM-0001 (Armo), STI-1110 (Sorrento Therapeutics; см. WO 2014/194302), AGEN2034 (Agenus; см. WO 2017/040790), MGA012 (Macrogenics, см. WO 2017/19846) и IBI308 (Innovent; см. WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540).

В одном варианте осуществления анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой полностью человеческое IgG4 (S228P) антитело, действующее как ингибитор рецептора иммунных контрольных точек PD-1, которое избирательно предотвращает взаимодействие с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), тем самым блокируя понижающую регуляцию противоопухолевых функций Т-клеток (патент США 8008449; Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56).

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичную аминокислотам, имеющим последовательность, указанную в SEQ ID NO: 11 (и/или имеющую три CDR, содержащие аминокислоты 31-35 последовательности SEQ ID NO: 11, аминокислоты 55-66 последовательности SEQ ID NO: 11 и аминокислоты 99-102 последовательности SEQ ID NO: 11), и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислоты, имеющие последовательность, указанную в аминокислотной последовательности, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичную SEQ ID NO: 12 (и/или имеющую три CDR, содержащие аминокислоты 24-34 последовательности SEQ ID NO: 12, аминокислоты 50-56 последовательности SEQ ID NO: 12 и аминокислоты 89-97 последовательности SEQ ID NO: 12).

Тяжелая цепь: QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQA

PGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYC
ATNDDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 11). CDR подчеркнуты.

Легкая цепь: EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ

APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLPEPDAFVYYCQSSNWPRTFGQG
TKVEIK (SEQ ID NO: 12). CDR подчеркнуты.

В другом варианте осуществления анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизованное моноклональное IgG4 (S228P) антитело, направленное против человеческого рецептора клеточной поверхности PD-1 (программируемой смерти - 1 или программируемой смерти клеток - 1). Пембролизумаб описан, например, в патентах США 8354509 и 8900587.

Анти-PD-1 антитела, применяемые в раскрытых композициях и способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и перекрестно конкурируют за связывание с PD-1 человека с любым анти-PD-1 антителом, раскрытым в настоящем документе, например, ниволумабом (см., например, патенты США 8008449 и 8779105; WO 2013/173223). В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело связывается с тем же эпитопом, что и любое из анти-PD-1 антител, описанных в настоящем документе, например, ниволумаб. Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном указывает на то, что эти моноклональные антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно-конкурирующих антител с областью данного конкретного эпитопа. Предполагается, что эти перекрестно-конкурирующие антитела имеют функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, ниволумаба, благодаря их связыванию с той же эпитопной областью PD-1. Перекрестно-конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности к перекрестной конкуренции с ниволумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Вiasore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

В некоторых вариантах осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с человеческим PD-1 или связываются с той же эпитопной областью человеческого PD-1, что и ниволумаб, являются моноклональными антителами. В целях введения человеческим субъектам эти перекрестно-конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела или гуманизованные антитела или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизованные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области.

Анти-PD-1 антитела, применяемые в композициях и способах по изобретению, также включают антигенсвязывающие фрагменты вышеупомянутых антител. Было наглядно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть осуществлена фрагментами полноразмерного антитела.

Анти-PD-1 антитела, подходящие для применения в раскрытых композициях и способах, представляют собой антитела, которые связываются с PD-1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание с PD-L1 и/или PD-L2 и ингибируют иммуносупрессивный эффект сигнального пути PD-1. В любой из композиций или способов, раскрытых в настоящем документе, анти-PD-1 "антитело" включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, которая связывается с рецептором PD-1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител, в ингибировании связывания лиганда и в повышающей активации иммунной системы. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 анти-

тело или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют с ниволумабом за связывание с человеческим PD-1.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в дозе от 0,1 мг/кг до 20,0 мг/кг массы тела один раз каждые 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель, например, от 0,1 мг/кг до 10,0 мг/кг массы тела один раз каждые 2, 3 или 4 недели. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в дозе около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 6 мг/кг, около 7 мг/кг, около 8 мг/кг, около 9 мг/кг или 10 мг/кг массы тела один раз каждые 2 недели. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в дозе около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 6 мг/кг, около 7 мг/кг, около 8 мг/кг, около 9 мг/кг или 10 мг/кг массы тела один раз каждые 3 недели. В одном варианте осуществления анти-PD-1 антитело вводят в дозе около 5 мг/кг массы тела примерно один раз каждые 3 недели. В другом варианте осуществления анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб, вводят в дозе около 3 мг/кг массы тела примерно один раз каждые 2 недели. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело, например, пембролизумаб, вводят в дозе около 2 мг/кг массы тела примерно один раз каждые 3 недели.

Анти-PD-1 антитело, пригодное для настоящего изобретения, можно вводить в виде постоянной дозы. В одном варианте осуществления анти-PD-1 антитело вводят в виде постоянной дозы, равной по меньшей мере примерно 200 мг, по меньшей мере примерно 220 мг, по меньшей мере примерно 240 мг, по меньшей мере примерно 260 мг, по меньшей мере примерно 280 мг, по меньшей мере примерно 300 мг, по меньшей мере примерно 320 мг, по меньшей мере примерно 340 мг, по меньшей мере примерно 360 мг, по меньшей мере примерно 380 мг, по меньшей мере примерно 400 мг, по меньшей мере примерно 420 мг, по меньшей мере примерно 440 мг, по меньшей мере примерно 460 мг, по меньшей мере примерно 480 мг, по меньшей мере примерно 500 мг или по меньшей мере примерно 550 мг с интервалом дозирования примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 недель. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в виде постоянной дозы, равной от около 200 до около 800 мг, от около 200 до около 700 мг, от около 200 до около 600 мг, от около 200 до около 500 мг, с интервалом дозирования около 1, 2, 3 или 4 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в виде постоянной дозы около 200 мг примерно один раз каждые 3 недели. В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в виде постоянной дозы около 240 мг примерно один раз каждые 2 недели. В определенных вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в виде постоянной дозы около 480 мг примерно один раз каждые 4 недели.

Анти-PD-L1 антитела, полезные для изобретения

Анти-PD-L1 антитела, которые являются известными в данной области, можно применять в композициях и способах по настоящему изобретению. Примеры анти-PD-L1 антител, применимых в композициях и способах по настоящему изобретению, включают антитела, раскрытые в патенте США № 9580507. Было продемонстрировано, что человеческие моноклональные анти-PD-L1 антитела, раскрытые в патенте США 9580507, проявляют одну или несколько из следующих характеристик: (а) связываются с PD-L1 человека с K_D , равной 1×10^{-7} М или менее, как это определено с помощью поверхностного плазмонного резонанса с использованием биосенсорной системы Biacore; (b) увеличивают пролиферацию Т-клеток в анализе реакции лимфоцитов в смешанной культуре (MLR); (c) увеличивают продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (d) увеличивают секрецию IL-2 в анализе MLR; (e) стимулируют ответы антител; и (f) изменяют эффект Т-регуляторных клеток на эффекторные Т-клетки и/или дендритные клетки на противоположный. Анти-PD-L1 антитела, применяемые в настоящем изобретении, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с человеческим PD-L1 и проявляют по меньшей мере одну, а в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере пять из предыдущих характеристик.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело выбрано из группы, состоящей из BMS-936559 (также известное как 12A4, MDX-1105; см., например, патент США 7943743 и WO 2013/173223), атезолизумаб (Roche; также известное как TECENTRIQ®; MPDL3280A, RG7446; см. US 8217149; см., также, Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000), дурвалумаб (AstraZeneca; также известное как IMFINZI™, MEDI-4736; см. WO 2011/066389), авелумаб (Pfizer; также известное как BAVENCIO®, MSB-0010718C; см. WO 2013/079174), STI-1014 (Sorrento; см. WO 2013/181634), CX-072 (Cytomx; см. WO 2016/149201), KN035 (3D Med/Alphamab; см. Zhang et al., Cell Discov. 7:3 (Март 2017), LY3300054 (Eli Lilly Co.; см., например, WO 2017/034916) и CK-301 (Checkpoint Therapeutics; см. Gorelik et al., AACR:Abstract 4606 (Apr 2016)).

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело представляет собой атезолизумаб (TECENTRIQ®). Атезолизумаб представляет собой полностью гуманизированное моноклональное анти-PD-L1 IgG1 антитело.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело представляет собой дурвалумаб (IMFINZI™). Дурвалумаб представляет собой человеческое анти-PD-L1 IgG1 каппа моноклональное антитело.

В определенных вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело представляет собой авелумаб (BAVENCIO®). Авелумаб представляет собой человеческое анти-PD-L1 IgG1 ламбда моноклональное антитело.

Анти-PD-L1 антитела, применяемые в раскрытых композициях и способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с человеческим PD-L1 и перекрестно конкурируют за связывание с человеческим PD-L1 с любым анти-PD-L1 антителом, раскрытым в настоящем документе, например, атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело связывается с тем же эпитопом, что и любое из анти-PD-L1 антител, описанных в настоящем документе, например атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб. Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном указывает на то, что эти антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно-конкурирующих антител с областью данного конкретного эпитопа. Предполагается, что эти перекрестно-конкурирующие антитела имеют функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, атезолизумаба и/или авелумаба, благодаря их связыванию с той же эпитопной областью PD-L1. Перекрестно-конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности к перекрестной конкуренции с атезолизумабом и/или авелумабом в стандартных анализах связывания PD-L1, таких как анализ Вiasore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

В некоторых вариантах осуществления антитела, которые перекрестно-конкурируют за связывание с человеческим PD-L1 или связываются с той же эпитопной областью человеческого PD-L1, что и атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб, являются моноклональными антителами. В целях введения человеческим субъектам эти перекрестно-конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела или гуманизированные антитела или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области.

Анти-PD-L1 антитела, применяемые в композициях и способах по изобретению, также включают антигенсвязывающие фрагменты вышеупомянутых антител. Было наглядно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть осуществлена фрагментами полноразмерного антитела.

Анти-PD-L1-антитела, подходящие для применения в раскрытых композициях и способах, представляют собой антитела, которые связываются с PD-L1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-1 и ингибируют иммуносупрессивный эффект сигнального пути PD-1. В любой из композиций или в любом из способов, раскрытых в настоящем документе, анти-PD-L1 "антитело" включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, которая связывается с PD-L1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител, в ингибировании связывания рецептора и в повышающей регуляции иммунной системы. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом за связывание с человеческим PD-L1.

Анти-PD-L1 антитело, подходящее для настоящего изобретения, может представлять собой любое анти-PD-L1 антитело, которое специфически связывается с PD-L1, например, антитела, которые перекрестно конкурируют с дурвалумабом, авелумабом или атезолизумабом за связывание с человеческим PD-1, например, антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и дурвалумаб, авелумаб или атезолизумаб. В конкретном варианте осуществления анти-PD-L1 антитело представляет собой дурвалумаб. В других вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело представляет собой авелумаб. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело представляет собой атезолизумаб.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в дозе от около 0,1 до около 20,0 мг/кг массы тела, около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 6 мг/кг, около 7 мг/кг, около 8 мг/кг, около 9 мг/кг, около 10 мг/кг, около 11 мг/кг, около 12 мг/кг, около 13 мг/кг, около 14 мг/кг, около 15 мг/кг, около 16 мг/кг, около 17 мг/кг, около 18 мг/кг, около 19 мг/кг или около 20 мг/кг примерно раз в 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в дозе около 15 мг/кг массы тела примерно один раз каждые 3 недели. В других вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в дозе около 10 мг/кг массы тела примерно один раз каждые 2 недели.

В других вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело, пригодное для настоящего изобретения, представляет собой постоянную дозу. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в виде постоянной дозы по меньшей мере примерно 240 мг, по меньшей мере примерно 300 мг, по меньшей мере примерно 320 мг, по меньшей мере примерно 400 мг, по меньшей мере примерно 480 мг, по меньшей мере примерно 500 мг, по меньшей мере примерно 560 мг, по меньшей мере примерно 600 мг, по меньшей мере примерно 640 мг, по меньшей мере примерно 700 мг, по меньшей мере примерно 720 мг, по меньшей мере примерно 800 мг, по меньшей мере примерно 880 мг, по меньшей мере примерно 900 мг, по меньшей мере примерно 960 мг, по меньшей мере примерно 1000 мг, по меньшей мере примерно 1040 мг, по меньшей мере примерно 1100 мг, по меньшей мере примерно 1120 мг, по меньшей

мере примерно 1200 мг, по меньшей мере примерно 1280 мг, по меньшей мере примерно 1300 мг, по меньшей мере примерно 1360 мг или по меньшей мере примерно 1400 мг, с интервалом дозирования около 1, 2, 3 или 4 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в виде постоянной дозы около 1200 мг примерно один раз каждые 3 недели. В других вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в виде постоянной дозы около 800 мг примерно один раз каждые 2 недели.

Анти-CTLA-4 антитела

Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к способу лечения субъекта, пораженного опухолью, имеющей статус высокой мутационной нагрузки опухоли (ТМВ), включающему проведение у субъекта иммунотерапии, при этом иммунотерапия включает анти-CTLA-4 антитело. Способ может дополнительно включать измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта. Кроме того, настоящее изобретение предусматривает введение анти-CTLA-4 антитела субъекту, определенному как подходящий для такой терапии, например, на основании измерения высокой ТМВ.

Анти-CTLA-4 антитела, которые являются известными в данной области, можно применять в композициях и способах по настоящему изобретению. Анти-CTLA-4 антитела по настоящему изобретению связываются с человеческим CTLA-4 с тем, чтобы нарушить взаимодействие CTLA-4 с рецептором В7 человека. Поскольку взаимодействие CTLA-4 с В7 трансдуцирует сигнал, ведущий к инактивации Т-клеток, несущих рецептор CTLA-4, нарушение взаимодействия эффективно индуцирует, повышает или продлевает активацию таких Т-клеток, тем самым индуцируя, усиливая или продлевая иммунный ответ.

Человеческие моноклональные антитела, которые специфически связываются с CTLA-4 с высокой аффинностью, раскрыты в патенте США 6984202. Другие анти-CTLA-4 моноклональные антитела описаны, например, в патентах США 5993218, 6051227, 6683736 и 7034121, а также в международных публикациях WO 2012/122444, WO 2007/113648, WO 2016/196237 и WO 2000/037504, каждая из которых включена в настоящий документ путем ссылки в полном объеме. Было продемонстрировано, что анти-CTLA-4 человеческие моноклональные антитела, раскрытые в патенте США 6984202, проявляют одну или несколько из следующих характеристик: (а) специфически связывается с человеческим CTLA-4 с аффинностью связывания, отражаемой равновесной константой ассоциации (K_a), составляющей по меньшей мере около 10^7 M^{-1} , или около 10^9 M^{-1} , или от около 10^{10} M^{-1} до 10^{11} M^{-1} или выше, как определено с помощью анализа Вiasoge; (b) кинетическая константа ассоциации (k_a) составляет по меньшей мере около 10^3 , около 10^4 или около $10^5 \text{ м}^{-1}\text{с}^{-1}$; (c) кинетическая константа диссоциации (k_d) составляет по меньшей мере около 10^3 , около 10^4 или около $10^5 \text{ м}^{-1}\text{с}^{-1}$; и (d) ингибирует связывание CTLA-4 с В7-1 (CD80) и В7-2 (CD86). Анти-CTLA-4 антитела, применяемые в настоящем изобретении, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с CTLA-4 человека и проявляют по меньшей мере одну, по меньшей мере две или по меньшей мере три из предыдущих характеристик.

В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело выбрано из группы, состоящей из ипилимумаба (также известного как YERVOY®, MDX-010, 10D1; см. патент США 6,984,720), МК-1308 (Merck), AGEN-1884 (Agenus Inc.; см. WO 2016/196237) и тремелиумаба (AstraZeneca; также известного как тицилиумаб, CP-675,206; см. WO 2000/037504 и Ribas, Update Cancer Ther. 2(3): 133-39 (2007)). В конкретных вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимумаб.

В конкретных вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимумаб для применения в композициях и способах, раскрытых в настоящем документе. Ипилимумаб представляет собой полностью человеческое IgG1 моноклональное антитело, которое блокирует связывание CTLA-4 с его В7-лигандами, стимулируя тем самым активацию Т-клеток и улучшая общую выживаемость (OS) у пациентов с меланомой на поздней стадии.

В конкретных вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело представляет собой тремелиумаб.

В конкретных вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело представляет собой МК-1308.

В конкретных вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело представляет собой AGEN-1884.

Анти-CTLA-4 антитела, применяемые в раскрытых композициях и способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с CTLA-4 человека и перекрестно конкурируют за связывание с человеческим CTLA-4 с любым анти-CTLA-4 антителом, раскрытым в настоящем документе, например ипилимумабом и/или тремелиумабом. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело связывается с тем же эпитопом, что и любое из анти-CTLA-4 антител, описанных в настоящем документе, например с ипилимумабом и/или тремелиумабом. Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном указывает на то, что эти антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно-конкурирующих антител с областью данного конкретного эпитопа. Предполагается, что эти перекрестно-конкурирующие антитела имеют функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, ипилимумаба и/или тремелиумаба, благодаря их связыванию с той же эпитопной областью CTLA-4. Перекрестно-конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности к перекрестной конкуренции с ипилимумабом и/или тремелиумабом в стандартных анализах связывания CTLA-4, таких как анализ Вiasoge, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

В некоторых вариантах осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с человеческим CTLA-4 или связываются с той же эпитопной областью человеческого CTLA-4, что и ипилимумаб и/или тремелимуаб, являются моноклональными антителами. В целях введения человеческим субъектам эти перекрестно-конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела или гуманизированные антитела, или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области.

Анти-CTLA-4 антитела, применяемые в композициях и способах по изобретению, также включают антигенсвязывающие части вышеуказанных антител. Было наглядно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела.

Анти-CTLA-4 антитела, подходящие для применения в раскрытых способах или композициях, представляют собой антитела, которые связываются с CTLA-4 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют активность CTLA-4 и нарушают взаимодействие CTLA-4 с B7-рецептором человека. В любой из композиций или способов, раскрытых в данном документе, анти-CTLA-4 "антитело" включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, который связывается с CTLA-4 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител, в отношении ингибирования взаимодействия CTLA-4 с человеческим B7-рецептором и повышающей регуляции иммунной системы. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют с ипилимумабом и/или тремелимуабом за связывание с CTLA-4 человека.

В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе в диапазоне от 0,1 мг/кг до 10,0 мг/кг массы тела один раз каждые 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 1 мг/кг или 3 мг/кг массы тела один раз каждые 3, 4, 5 или 6 недель. В одном варианте осуществления анти-CTLA-4 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 3 мг/кг массы тела один раз каждые 2 недели. В другом варианте осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе 1 мг/кг массы тела один раз каждые 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы. В одном варианте осуществления анти-CTLA-4 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы, составляющей по меньшей мере примерно 200 мг, по меньшей мере примерно 220 мг, по меньшей мере примерно 240 мг, по меньшей мере примерно 260 мг, по меньшей мере примерно 280 мг, по меньшей мере примерно 300 мг, по меньшей мере примерно 320 мг, по меньшей мере примерно 340 мг, по меньшей мере примерно 360 мг, по меньшей мере примерно 380 мг, по меньшей мере примерно 400 мг, по меньшей мере примерно 420 мг, по меньшей мере примерно 440 мг, по меньшей мере примерно 460 мг, по меньшей мере примерно 480 мг, по меньшей мере примерно 500 мг или по меньшей мере примерно 550 мг. В другом варианте осуществления анти-CTLA-4 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в виде постоянной дозы примерно один раз каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель.

Анти-LAG-3 антитела

Некоторые аспекты настоящего изобретения направлены на способ лечения субъекта, пораженного опухолью с высоким статусом ТМВ, включающий проведение у субъекта иммунотерапии, при этом иммунотерапия включает анти-LAG-3 антитело или его антигенсвязывающую часть. Способ может, кроме того, включать измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта. Кроме того, в настоящем изобретении рассматривается введение анти-LAG-3 антитела или его антигенсвязывающей части субъекту, идентифицированному как подходящий для такой терапии, например, на основании измерения высокой ТМВ.

Анти-LAG-3 антитела по настоящему изобретению связываются с человеческим LAG-3. Антитела, которые связываются с LAG-3, описаны в международной публикации WO/2015/042246 и публикациях США 2014/0093511 и 2011/0150892. Иллюстративным антителом против LAG-3, применимым в настоящем раскрытии, является 25F7 (описанное в публикации США 2011/0150892). Дополнительное иллюстративное антитело против LAG-3, применимое в настоящем изобретении, представляет собой BMS-986016. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3, применимое для композиции, перекрестно конкурирует с 25F7 или BMS-986016. В другом варианте осуществления антитело против LAG-3, применимое для композиции, связывается с тем же эпитопом, что и 25F7 или BMS-986016. В других вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит шесть CDR из 25F7 или BMS-986016.

Анти-CD137 антитела

Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способу лечения субъекта, пораженного опухолью с высоким статусом ТМВ, включающему проведение у субъекта иммунотерапии, при этом иммунотерапия включает анти-CD137 антитело или его антигенсвязывающую часть. Способ может, кроме того, включать измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта. Кроме того, в изобретении рассматривается введение анти-CD137 антитела или его антигенсвязывающей части субъекту, идентифицированному как подходящий для такой терапии, например, на основании измерения высокой ТМВ.

Анти-CD 137 антитела специфически связываются и активируют экспрессирующие CD137 иммунные клетки, стимулируя иммунный ответ, в частности, цитотоксический Т-клеточный ответ, против опухолевых клеток. Антитела, которые связываются с CD137, были раскрыты в публикации США 2005/0095244 и патентах США 7288638, 6887673, 7214493, 6303121, 6569997, 6905685, 6355476, 6362325, 6974863 и 6210669.

В некоторых вариантах осуществления анти-CD137 антитело представляет собой урелумаб (BMS-663513), описанный в патенте США 7288838 (20Н4.9-IgG4 [10С7 или BMS-663513]). В некоторых вариантах осуществления анти-CD137 антитело представляет собой BMS-663031 (20Н4.9-IgG1), описанное в патенте США 7288838. В некоторых вариантах осуществления анти-CD137 антитело представляет собой 4Е9 или BMS-554271, описанное в патенте США 6887673. В некоторых вариантах осуществления анти-CD137 антитело представляет собой антитело, раскрытое в патентах США 7214493; 6303121; 6569997; 6905685; или 6355476. В некоторых вариантах осуществления анти-CD137 антитело представляет собой 1D8 или BMS-469492; 3Н3 или BMS-469497; или 3Е1, описанное в патенте США 6362325. В некоторых вариантах осуществления анти-CD137 антитело представляет собой антитело, раскрытое в выданном патенте США 6210669 (такое как 1D8, 3В8 или 3Е1). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой PF-05082566 фирмы Pfizer (PF-2566). В других вариантах осуществления анти-CD137 антитело, применимое для изобретения, перекрестно конкурирует с анти-CD137 антителами, раскрытыми в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-CD137 антитело связывается с тем же эпитопом, что и анти-CD137 антитело, раскрытое в настоящем документе. В других вариантах осуществления анти-CD137 антитело, применимое в изобретении, содержит шесть CDR анти-CD137 антител, раскрытых в настоящем документе.

Анти-KIR антитела

Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способу лечения субъекта, пораженного опухолью с высоким статусом ТМВ, включающему проведение у субъекта иммунотерапии, при этом иммунотерапия включает анти-KIR антитело или его антигенсвязывающую часть. Способ может, кроме того, включать измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта. Кроме того, в изобретении рассматривается введение анти-KIR антитела или его антигенсвязывающей части субъекту, идентифицированному как подходящий для такой терапии, например, на основании измерения высокой ТМВ.

Антитела, которые специфически связываются с KIR, блокируют взаимодействие между иммуноглобулин-подобными рецепторами (KIR) клеток-киллеров на NK-клетках с их лигандами. Блокирование этих рецепторов способствует активации NK-клеток и, возможно, разрушению ими опухолевых клеток. Примеры анти-KIR антител описаны в международной публикации WO/2014/055648, WO 2005/003168, WO 2005/009465, WO 2006/072625, WO 2006/072626, WO 2007/042573, WO 2008/084106, WO 2010/065939, WO 2012/071411 и WO/2012/160448.

Одним анти-KIR антителом, применимым в настоящем изобретении, является лирилумаб (также называемое как BMS-986015, IPH2102 или S241P вариант 1-7F9), впервые описанное в международной публикации WO 2008/084106. Дополнительное анти-KIR антитело, применимое в настоящем изобретении, представляет собой 1-7F9 (также называемое как IPH2101), описанное в международной публикации № WO 2006/003179. В одном варианте осуществления анти-KIR антитело для настоящей композиции перекрестно конкурирует за связывание с KIR лирилумабом или 1-7F9. В другом варианте осуществления анти-KIR антитело связывается с тем же эпитопом, что и лирилумаб или 1-7F9. В других вариантах осуществления анти-KIR антитело содержит шесть CDR лирилумаба или 1-7F9.

Анти-GITR антитела

Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способу лечения субъекта, пораженного опухолью со статусом высокой ТМВ, включающему проведение у субъекта иммунотерапии, при этом иммунотерапия включает анти-GITR антитело или его антигенсвязывающую часть. Способ может, кроме того, включать измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта. Кроме того, в изобретении рассматривается введение анти-GITR антитела или его антигенсвязывающей части субъекту, идентифицированному как подходящий для такой терапии, например, на основании измерения высокой ТМВ.

Анти-GITR антитела могут представлять собой любое анти-GITR антитело, которое специфически связывается с мишенью GITR человека и активирует рецептор фактора некроза опухоли, индуцированный глюкокортикоидом (GITR). GITR является членом суперсемейства рецепторов TNF, который экспрессируется на поверхности множества типов иммунных клеток, включая регуляторные Т-клетки, эффекторные Т-клетки, В-клетки, естественные клетки-киллеры (NK) и активированные дендритные клетки ("анти-GITR агонистические антитела"). В частности, активация GITR увеличивает пролиферацию и функцию эффекторных Т-клеток, а также устраняет супрессию, индуцированную активированными Т-регуляторными клетками. Кроме того, стимуляция GITR способствует противоопухолевому иммунитету за счет повышения активности других иммунных клеток, таких как NK-клетки, антиген-презентирующие клетки и В-клетки. Примеры анти-GITR антител раскрыты в международных публикациях

WO/2015/031667, WO2015/184099, WO2015/026684, WO 11/028683 и WO/2006/105021, патентах США 7812135 и 8388967 и публикациях США 2009/0136494, 2014/0220002, 2013/0183321 и 2014/0348841.

В одном варианте осуществления анти-GITR антитело, применимое в настоящем описании, представляет собой TRX518 (описано, например, в Schaer et al. *Curr Opin Immunol.* (2012) Apr; 24(2): 217-224, and WO/2006/105021). В другом варианте осуществления анти-GITR антитело выбрано из МК4166, МК1248 и антител, описанных в WO 11/028683 и US 8709424, и содержит, например, цепь VH, содержащую SEQ ID NO: 104, и цепь VL, содержащую SEQ ID NO: 105 (при этом последовательности SEQ ID NO взяты из WO 11/028683 или US 8709424). В некоторых вариантах осуществления анти-GITR антитело представляет собой анти-GITR антитело, которое раскрыто в WO 2015/031667, например, антитело, содержащее CDR 1-3 VH, содержащие SEQ ID NO: 31, 71 и 63 из WO 2015/031667, соответственно, и CDR 1-3 VL, содержащие SEQ ID NO: 5, 14 и 30 из WO 2015/031667. В определенных вариантах осуществления анти-GITR антитело представляет собой анти-GITR антитело, которое раскрыто в WO 2015/184099, например, антитело Hum231#1 или Hum231#2, или их CDR, или их производные (например, rab1967, rab1975 или rab1979). В некоторых вариантах осуществления анти-GITR антитело представляет собой анти-GITR антитело, которое раскрыто в JP 2008278814, WO 09/009116, WO 2013/039954, US 20140072566, US 20140072565, US 20140065152 или WO 2015/026684, или представляет собой INBRX-110 (INHIBRx), LKZ-145 (Novartis) или MEDI-1873 (MedImmune). В некоторых вариантах осуществления анти-GITR антитело представляет собой анти-GITR антитело, которое описано в PCT/US2015/033991 (например, антитело, содержащее вариабельные области 28F3, 18E10 или 19D3). Например, анти-GITR антитело может представлять собой антитело, содержащее следующие цепи VH и VL или их CDR:

VH:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYEGSNKYYADSVKGRFTISRDN
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYDYYGMDVWGQGT'TVTVS (SEQ ID NO: 1) и

VL:

AIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISALAWYQQKPKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2); или

VH:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLDYYYYYVMDVWGQGT'TVTVSS (SEQ ID NO: 3) и

VL:

DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 4); или

VH:

VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYAGSNKYYADSVKGRFTISRDN
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGRIAVAFYYSMVMDVWGQGT'TVTVSS (SEQ ID NO: 5) и

VL:

DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 6).

В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее пару указанных выше легких цепей VH и VL или их CDR, содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1, либо дикого типа, либо мутированную, например, не содержащую эффекторов. В одном варианте осуществления анти-GITR антитело содержит следующие аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей:

тяжелая цепь:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDN
KNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYIYGMVWVGGQTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTRVERK
CCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN
STFRVVSIVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SSKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO: 7) и

легкая цепь:

AIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISSALAWYQQKPKAPKLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 8) или

тяжелая цепь:

qvqlvesgggvvqpgrslrlscaasgftfssygmhwvrqapgkglewvaviwyegsnkyyadsvkgrftisrdns
kntlylqmnsraedtavyycarggsmvrgdyiyygmvdvvgqgtttvtvssastkgpsvflapsskstsggtaalg
clvkdyfpepvtvswngalstsvhtfpavqlqssglyslssvvtvpsnfgtqtyicnvnhkpsntkvdkrvepk
scdkthtccppapeaegapsvflfppkpkdtlmi srtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpre
eqnystyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpssiectiskakgqprepqvyltppsreemtknqvsltcl
vkgfyypsdiavewesngqpennykttpvldsdgsfflyskltdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsl
spg (SEQ ID NO: 9) и

легкая цепь:

AIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISSALAWYQQKPKAPKLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 10).

В некоторых вариантах осуществления анти-GITR антитело перекрестно конкурирует с анти-GITR антителом, описанным в настоящем документе, например, TRX518, MK4166 или антителом, содержащим аминокислотную последовательность домена VH и домена VL, описанную в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-GITR антитело связывается с тем же эпитопом, что и анти-GITR антитело, описанное в настоящем документе, например, TRX518, MK4166 или антитело, содержащее аминокислотную последовательность домена VH и домена VL, описанную в настоящем документе. В определенных вариантах осуществления анти-GITR антитело содержит шесть CDR TRX518, MK4166 или CDR антитела, содержащего аминокислотную последовательность домена VH и домена VL, описанную в настоящем документе.

Дополнительные антитела

В некоторых вариантах осуществления иммуноterapia включает анти-TGF антитело. В определенных вариантах осуществления анти-TGFβ антитело представляет собой анти-TGFα антитело, раскрытое в международной публикации WO 2009/073533.

В некоторых вариантах осуществления иммуноterapia включает анти-IL-10 антитело. В определенных вариантах осуществления анти-IL-10 антитело представляет собой анти-IL-10 антитело, раскрытое в международной публикации WO 2009/073533.

В некоторых вариантах осуществления иммуноterapia включает анти-B7-H4 антитело. В определенных вариантах осуществления анти-B7-H4 антитело представляет собой анти-B7-H4 антитело, раскрытое в международной публикации WO 2009/073533.

В некоторых вариантах осуществления иммуноterapia включает антитело против Fas-лиганда. В некоторых вариантах осуществления антитело против Fas-лиганда представляет собой антитело против Fas-лиганда, раскрытое в международной публикации WO 2009/073533.

В некоторых вариантах осуществления иммуноterapia включает анти-CXCR4 антитело. В определенных вариантах осуществления анти-CXCR4 антитело представляет собой анти-CXCR4 антитело, раскрытое в публикации патента США 2014/0322208 (например, Ulocuplumab (BMS-936564)).

В некоторых вариантах осуществления иммуноterapia включает антитело против мезотелина. В определенных вариантах осуществления антитело против мезотелина представляет собой антитело против мезотелина, раскрытое в патенте США 8399623.

В некоторых вариантах осуществления иммуноterapia включает анти-HER2 антитело. В определенных вариантах осуществления анти-HER2 антитело представляет собой герцептин (патент США 5821337), трастузумаб или адо-трастузумаб эмтанзин (Kadcyla, например, WO 2001/000244).

В некоторых вариантах осуществления иммуноterapia включает анти-CD27 антитело. В некоторых

вариантах осуществления анти-CD-27 антитело представляет собой варлилумаб (также известный как "CDX-1127" и "1F5"), которое представляет собой IgG1-антитело человека, являющееся агонистом CD27 человека, как раскрыто, например, в патенте США 9169325.

В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает анти-CD73 антитело. В определенных вариантах осуществления анти-CD73 антитело представляет собой CD73.4.IgG2C219S.IgG1.1f.

В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает анти-MICA антитело. Используемое в настоящем документе анти-MICA антитело представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с последовательностью A, связанной с полипептидом MHC класса I. В некоторых вариантах осуществления анти-MICA антитело связывается с MICB в дополнение к MICA. В некоторых вариантах осуществления анти-MICA антитело ингибирует расщепление мембраносвязанного MICA и высвобождение растворимый MICA. В некоторых вариантах осуществления анти-MICA антитело представляет собой анти-MICA антитело, раскрытое в публикации патента США 2014/004112 A1, публикации патента США 2016/046716 A1 или публикации патента США 2017/022275 A1.

В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает анти-TIM3 антитело. Используемое в настоящем документе анти-TIM3 антитело представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает T-клеточный иммуноглобулин и домен-3 муцина (TIM3), также известный как клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2). В некоторых вариантах осуществления анти-TIM3 антитело способно стимулировать иммунный ответ, например, антиген-специфический T-клеточный ответ. В некоторых вариантах осуществления анти-TIM3 антитело связывается с растворимым или мембраносвязанным TIM3 человека или яванского макака. В определенных вариантах осуществления анти-TIM3 антитело представляет собой анти-TIM3 антитело, раскрытое в международной публикации WO 2018/013818, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления способ включает проведение комбинированной терапии, включающей два или более антител. В некоторых вариантах осуществления два или более антител выбраны из группы, состоящей из PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, MICA, CD137, KIR, TGF β , IL-10, IL-8, B7-H4, лиганда Fas, CXCR4, мезотелина, CD27, GITR. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-1 антитела и анти-CTLA-4 антитела. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-L1 антитела и анти-CTLA-4 антитела. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-L1 антитела и анти-LAG3 антитела. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-L1 антитела и анти-TIM3 антитела. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-L1 антитела и анти-GITR антитела. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-L1 антитела и анти-MICA антитела. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-L1 антитела и анти-CD137 антитела. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-L1 антитела и анти-CD27 антитела. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение комбинации анти-PD-L1 антитела и анти-CXCR4 антитела.

Цитокины

В некоторых вариантах осуществления способ включает проведение комбинированной терапии, включающей антитело и цитокин. Цитокин может представлять собой любой цитокин или его вариант, известный в данной области. В некоторых вариантах осуществления цитокин выбран из группы, состоящей из интерлейкина-2 (IL-2), IL-1 β , IL-6, TNF- α , RANTES, моноцит-хемоаттрактант-белка-1 (MCP-1), белка воспаления моноцитов (MIP-1 α и MIP-1 β), IL-8, лимфотактина, фракталкина, IL-1, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, LIF, интерферона-альфа, TGF-бета и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления этот цитокин представляет собой агонист CD122. В определенных вариантах осуществления цитокин включает IL-2 или его вариант.

В некоторых вариантах осуществления цитокин содержит одну или несколько аминокислотных замещений или вставок относительно аминокислотной последовательности цитокина дикого типа. В некоторых вариантах осуществления цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 1, 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 аминокислот, замещенных относительно аминокислотной последовательности цитокина дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления цитокин является модифицированным, например, для увеличения активности и/или периода полувыведения. В некоторых вариантах осуществления цитокин модифицирован путем слияния гетерологичного фрагмента с цитокином. Гетерологичный фрагмент может представлять собой любую структуру, включая полипептид, полимер, малую молекулу, нуклеотид или его фрагмент или аналог. В определенных вариантах осуществления гетерологичный фрагмент содержит

полипептид. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный фрагмент содержит альбумин или его фрагмент, альбумин-связывающий полипептид (ABP), ХТЕН, Fc, PAS, С-концевой пептид (СТР) β-субъединицы хорионического гонадотропина человека или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления цитокин модифицирован путем слияния цитокина с полимером. В некоторых вариантах осуществления полимер включает полиэтиленгликоль (PEG), полипропиленгликоль (PPG), гидроксипропилкрахмал (HES) или любую их комбинацию. Термин "PEG" или "полиэтиленгликоль", используемый в настоящем документе, означает любой водорастворимый поли(этиленоксид). Если не указано иное, "полимер PEG" или полиэтиленгликоль представляет собой такой, в котором по существу все (предпочтительно все) мономерные субъединицы представляют собой этиленоксидные субъединицы, хотя полимер может содержать отдельные концевые фрагменты или функциональные группы, например, для конъюгации. Полимеры PEG для использования в настоящем раскрытии будут содержать одну из двух следующих структур: $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ или $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{n-1}\text{CH}_2\text{CH}_2-$ в зависимости от того, был ли замещен концевой атом(ы) кислорода, например, во время синтетического превращения. Как указано выше, для полимеров PEG переменная (n) варьирует от около 3 до 4000, и концевые группы и архитектура всего PEG могут изменяться.

В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают проведение у субъекта, имеющего статус высокой ТМВ, иммунотерапии, при этом иммунотерапия включает антитело и агонист CD122. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает введение (1) анти-PD-1 антитела, анти-CTLA-4 антитела, анти-CTLA-4 антитела или любой их комбинации, и (2) агониста CD122. В некоторых вариантах осуществления агонист CD122 представляет собой IL-2 или его вариант. В некоторых вариантах осуществления агонист CD122 представляет собой вариант IL-2, имеющий по меньшей мере 1 аминокислотную замену относительно IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления агонист CD122 представляет собой IL-2, слитый с PEG. В некоторых вариантах осуществления агонист CD122 представляет собой вариант IL-2, имеющий по меньшей мере 1 аминокислотную замену относительно IL-2 дикого типа, при этом вариант IL-2 слит с PEG.

Стандартная терапия рака

В некоторых вариантах осуществления способы, раскрытые в настоящем документе, применяют вместо стандартных способов лечения. В определенных вариантах осуществления стандартную терапию используют в сочетании с любым способом, раскрытым в настоящем документе. Стандартные терапии для различных типов рака хорошо известны специалистам в данной области. Например, Национальная комплексная онкологическая сеть (NCCN), объединяющая 21 крупный онкологический центр в США, публикует Руководство по клинической практике NCCN в онкологии (NCCN GUIDELINES®), в котором содержится подробная актуальная информация о стандарте лечения широкого спектра раковых заболеваний (см. NCCN GUIDELINES®, 2014).

Колоректальный рак

В некоторых вариантах осуществления комбинированную терапию применяют для лечения рака, который представляет собой колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой рак толстой кишки. В других вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой рак прямой кишки. В некоторых вариантах осуществления колоректальный рак имеет микросателлитную нестабильность (MSI). (См. Pawlik et al., Dis. Markers 20(4-5): 199-206 (2004)). В других вариантах осуществления колоректальный рак имеет низкую микросателлитную нестабильность (MSI-L).

Колоректальный является третьим наиболее распространенным типом рака у мужчин и женщин в США (см. <http://www.cancer.gov/types/colorectal>, последний раз посещенный 9 декабря 2015 г.). Большинство колоректальных типов рака представляют собой аденокарциномы. Рак толстой кишки характеризуется пятью стадиями: стадия 0 (карцинома in situ), стадия I, стадия II, стадия III и стадия IV. Для рака толстой кишки применяют шесть типов стандартного лечения: 1) хирургическую операцию, включающую местное иссечение, резекцию толстой кишки с анастомозом или резекцию толстой кишки с колостомой; 2) радиочастотную абляцию; 3) криохирургию; 4) химиотерапию; 5) лучевую терапию и 6) таргетные терапии, включая моноклональные антитела и ингибиторы ангиогенеза. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению лечит рак толстой кишки вместе со стандартной терапией.

Рак прямой кишки имеет пять стадий: стадия 0 (карцинома in situ), стадия I, стадия II, стадия III и стадия IV. Шесть типов стандартного лечения применяют для рака прямой кишки: 1) хирургическую операцию, включающую полипэктомию, локальное иссечение, резекцию, радиочастотную абляцию, криохирургию и расширение таза; 2) лучевую терапию; 3) химиотерапию и 4) таргетную терапию, включая терапию моноклональными антителами. В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению лечат рак прямой кишки вместе со стандартной терапией.

Рак легкого

В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению лечит рак, который представляет собой рак легкого. В определенных вариантах осуществления рак пред-

ставляет собой NSCLC. В некоторых вариантах осуществления NSCLC имеет плоскоклеточную гистологию. В других вариантах осуществления NSCLC имеет неплоскоклеточную гистологию.

NSCLC является ведущей причиной онкологической смертности в США и во всем мире, превышая по смертности рак молочной железы, толстой кишки и предстательной железы, вместе взятых. В США, согласно оценкам, 228190 новых случаев рака легкого и бронхов будут диагностированы в США, и около 159480 смертей будет происходить из-за данного заболевания (Siegel et al. (2014) CA Cancer J Clin 64(1):9-29). Большинство пациентов (около 78%) диагностированы с распространенным/рецидивирующим или метастатическим заболеванием. Метастазы в надпочечниках от рака легкого являются обычным явлением, при этом около 33% пациентов имеют такие метастазы. Способы лечения NSCLC постепенно улучшают OS, но преимущество достигло плато (медиана OS для пациентов поздней стадии составляет всего 1 год). Прогрессирование после терапии 1L происходило почти у всех данных субъектов, а уровень выживаемости через 5 лет в случае невосприимчивости к лечению составляет только 3,6%. С 2005 по 2009 год общий относительный уровень выживаемости через 5 лет для рака легкого в США составил 15,9% (NCCN GUIDELINES®, версия 3.2014 - немелкоклеточный рак легкого, доступный по адресу: www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf, последнее обращение 14 мая 2014 г.).

Существует семь стадий NSCLC: окультный немелкоклеточный рак легкого, стадия 0 (карцинома in situ), стадия I, стадия II, стадия IIIA, стадия IIIB и стадия IV. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению лечит NSCLC вместе со стандартной терапией.

Кроме того, настоящие способы также можно комбинировать с хирургическим вмешательством, лучевой терапией (RT) и химиотерапией, которые представляют собой три способа, обычно применяемые для лечения пациентов с NSCLC. Как класс, различные виды NSCLC являются относительно нечувствительными к химиотерапии и RT, по сравнению с мелкоклеточной карциномой. В целом, для пациентов с заболеванием на стадии I или II хирургическая резекция дает наилучшие шансы на излечение, при этом химиотерапия все чаще используется как до операции, так и после операции. RT также можно применять в качестве адьювантной терапии для пациентов с операбельным NSCLC, первичного местного лечения или в качестве паллиативной терапии для пациентов с неизлечимым NSCLC.

В одном варианте осуществления субъект, подходящий для способов по настоящему изобретению, представляет собой пациента со стадией IV заболевания. Пациенты с заболеванием IV стадии имеют хороший показатель общего состояния (PS) после химиотерапии. Многие лекарственные средства, в том числе агенты на основе платины (например, цисплатин, карбоплатин), агенты на основе таксана (например, паклитаксел, альбумин-связанный паклитаксел и доцетаксел), винорелбин, винбластин, этопозид, пеметрексед и гемцитабин, применимы для NSCLC на IV стадии. Комбинации, использующие многие из этих лекарственных средств, обеспечивают уровни выживаемости 30-40% в течение 1 года и превосходят одиночные агенты. Специальные таргетные терапии были также разработаны для лечения распространенного рака легкого. Например, бевацизумаб (AVASTIN®) представляет собой моноклональное антитело, которое блокирует фактор роста эндотелия сосудов А (VEGF-A). Эрлотиниб (TARCEVA®) представляет собой низкомолекулярный ТКИ, нацеленный на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR). Кризотиниб (XALKORI®) представляет собой низкомолекулярный ТКИ, нацеленный на ALK и MET, и применяется для лечения NSCLC у пациентов, несущих мутантный слитый ген ALK. Цетуксимаб (ERBITUX®) представляет собой моноклональное антитело, которое нацелено на EGFR.

В некоторых вариантах осуществления настоящие способы применяют для лечения субъекта, имеющего плоскоклеточный NSCLC. В определенных вариантах осуществления настоящие способы применяют в комбинации со стандартной терапией. Существует особая неудовлетворенная потребность у пациентов, которые имеют плоскоклеточный NSCLC (на него приходится до 25% всех случаев NSCLC), поскольку имеется мало вариантов лечения после терапии первой линии (1L). Однокомпонентная химиотерапия является стандартом лечения после прогрессирования с применением химиотерапии на основе двух лекарственных препаратов, один из которых содержит платину (Pt-doublet), давая медиану OS продолжительностью около 7 месяцев. Доцетаксел остается эталоном лечения в данной линии терапии, хотя эрлотиниб также можно использовать с меньшей частотой. Также было показано, что пеметрексед дает клинически эквивалентные результаты по эффективности, но со значительно меньшим количеством побочных эффектов по сравнению с доцетакселем при лечении второй линии (2L) пациентов с распространенным NSCLC (Hanna et al., 2004 J Clin Oncol 22:1589-97). Ни одна терапия в настоящее время не одобрена для применения при раке легкого за пределами третьей линии (3L). Пеметрексед и бевацизумаб не одобрены при плоскоклеточном NSCLC, и молекулярно-таргетные терапии имеют ограниченное применение. Неудовлетворенная потребность в лечении распространенного рака легкого усугубляется недавней неудачей STIMUVAX® компании Oncocyte and Merck KGaA улучшить OS в фазе 3 испытаний, неспособностью ингибитора с-Met-киназы тивантиниба компаний ArQule и Daiichi Sankyo в достижении клинического целевого результата по выживаемости, неудачей препарата ALIMTA® фирмы Eli Lilly в комбинации с AVASTIN® компании Roche в улучшении OS в исследовании на поздней стадии, и неудачей компаний Amgen и Takeda Pharmaceutical в достижении клинического целевого результата с низкомолекулярным VEGF-R-антагонистом, мотесанибом, в испытаниях на поздних стадиях.

Комбинированные терапии

Некоторые аспекты настоящего изобретения направлены на способы лечения субъекта, пораженного опухолью, включающие введение субъекту терапевтически эффективного количества (а) анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела, и (b) антитела или его антигенсвязывающей части, которое специфически связывается с цитотоксическим Т-лимфоцит-ассоциированным белком 4 (CTLA-4) ("анти-CTLA-4 антитело"), при этом опухоль имеет высокий статус мутационной нагрузки опухоли (ТМВ). В определенных вариантах осуществления опухоль происходит из мелкоклеточного рака легкого (NSCLC). В некоторых вариантах осуществления высокая ТМВ характеризуется по меньшей мере примерно 10 мутациями на мегабазу исследованных генов. В конкретных вариантах осуществления способ, кроме того, включает измерение статуса ТМВ биологического образца, полученного от субъекта до введения.

В определенных вариантах осуществления анти-PD-1 антитело, анти-PD-L1 антитело и/или анти-CTLA-4 антитело вводят в терапевтически эффективном количестве. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение терапевтически эффективного количества анти-PD-1 антитела и анти-CTLA-4 антитела. В других вариантах осуществления способ включает введение терапевтически эффективного количества анти-PD-L1 антитела и анти-CTLA-4 антитела. Любое антитело против PD-1, против PD-L1 или против CTLA-4, раскрытое в настоящем документе, может быть использовано в способе. В определенных вариантах осуществления анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело представляет собой атезолизумаб. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело представляет собой дурвалумаб. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимумаб. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимумаб, тремелиумаб.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело и анти-CTLA-4 антитело, каждое, вводят один раз примерно каждые 2 недели, один раз примерно каждые 3 недели, один раз примерно каждые 4 недели, один раз примерно каждые 5 недель или один раз каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят один раз каждые 2 недели, один раз каждые 3 недели или один раз каждые 4 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят один раз примерно каждые 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе в диапазоне примерно от 0,1 до 20,0 мг/кг массы тела один раз примерно каждые 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 0,1 мг/кг, около 0,3 мг/кг, около 0,6 мг/кг, около 0,9 мг/кг, около 1 мг/кг, около 3 мг/кг, около 6 мг/кг, около 9 мг/кг, около 10 мг/кг, около 12 мг/кг, около 15 мг/кг, около 18 мг/кг или около 20 мг/кг. В определенных вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе примерно 1 мг/кг один раз примерно каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе примерно 1 мг/кг один раз каждые 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в фиксированной дозе. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в фиксированной дозе в диапазоне от по меньшей мере около 40 мг до по меньшей мере около 1600 мг. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в фиксированной дозе, составляющей по меньшей мере около 40 мг, по меньшей мере около 50 мг, по меньшей мере около 60 мг, по меньшей мере около 70 мг, по меньшей мере около 80 мг, по меньшей мере около 90 мг, по меньшей мере около 100 мг, по меньшей мере около 110 мг, по меньшей мере около 120 мг, по меньшей мере около 130 мг, по меньшей мере около 140 мг, по меньшей мере около 150 мг, по меньшей мере около 160 мг, по меньшей мере около 170 мг, по меньшей мере около 180 мг, по меньшей мере около 190 мг или по меньшей мере около 200 мг. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в фиксированной дозе, составляющей по меньшей мере около 220 мг, по меньшей мере около 230 мг, по меньшей мере около 240 мг, по меньшей мере около 250 мг, по меньшей мере около 260 мг, по меньшей мере около 270 мг, по меньшей мере около 280 мг, по меньшей мере около 290 мг, по меньшей мере около 300 мг, по меньшей мере около 320 мг, по меньшей мере около 360 мг, по меньшей мере около 400 мг, по меньшей мере около 440 мг, по меньшей мере около 480 мг, по меньшей мере около 520 мг, по меньшей мере около 560 мг или по меньшей мере около 600 мг. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в фиксированной дозе, составляющей по меньшей мере около 640 мг, по меньшей мере около 720 мг, по меньшей мере около 800 мг, по меньшей мере около 880 мг, по меньшей мере около 960 мг, по меньшей мере около 1040 мг, по меньшей мере около 1120 мг, по меньшей мере около 1200 мг, по меньшей мере около 1280 мг, по меньшей мере около 1360 мг, по меньшей мере около 1440 мг или по меньшей мере около 1600 мг. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело вводят в фиксированной дозе по меньшей мере один раз каждые 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в дозе около 2 мг/кг один раз примерно каждые 3 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в дозе около 3 мг/кг один раз примерно каждые 2 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз при-

мерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в дозе около 6 мг/кг один раз примерно каждые 4 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в фиксированной дозе около 200 мг один раз примерно каждые 3 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в фиксированной дозе около 240 мг один раз примерно каждые 2 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в фиксированной дозе около 480 мг один раз примерно каждые 4 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в фиксированной дозе около 200 мг один раз примерно каждые 3 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в фиксированной дозе около 80 мг один раз примерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в фиксированной дозе около 240 мг один раз примерно каждые 2 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 80 мг один раз примерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в фиксированной дозе около 480 мг один раз примерно каждые 4 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 80 мг один раз примерно каждые 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в дозе около 10 мг/кг один раз примерно каждые 2 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в дозе около 15 мг/кг один раз примерно каждые 3 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в фиксированной дозе около 800 мг один раз примерно каждые 2 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в фиксированной дозе около 1200 мг один раз примерно каждые 3 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 1 мг/кг один раз примерно каждые 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в фиксированной дозе около 800 мг один раз примерно каждые 2 недели, и анти-CTLA-4 антитело вводят в фиксированной дозе около 80 мг один раз примерно каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело вводят в фиксированной дозе около 1200 мг один раз примерно каждые 3 недели и анти-CTLA-4 антитело вводят в дозе около 80 мг один раз примерно каждые 6 недель.

Меланома

В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия лечит рак, который представляет собой меланому. Меланома является самой смертельной формой рака кожи и является пятым наиболее распространенным диагнозом рака у мужчин и седьмым наиболее распространенным диагнозом рака у женщин. (См. <http://www.cancer.gov/types/skin>, последнее посещение 9 декабря 2015 г.). Меланома имеет семь стадий: стадия 0 (меланома in situ), стадия I, стадия II, стадия III, которая может быть удалена хирургическим путем, стадия IV, которая не может быть удалена хирургическим путем, стадия IV и рецидивная меланома. Используются пять стандартных видов лечения: 1) хирургическая операция; 2) химиотерапия; 3) лучевая терапия и 4) биологическая терапия, включающая терапию интерфероном, интерлейкином-2 (IL-2), фактором некроза опухоли (TNF) и ипилимумабом и 5) таргетная терапия, включающая терапию ингибитором сигнальной трансдукции (например, вемурафениб, дабрафениб и траметиниб), онколитическая вирусотерапия, терапия моноклональными антителами (включая пембролизумаб и ниволумаб) и ингибиторы ангиогенеза. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению лечит меланому вместе со стандартной терапией ухода.

Рак яичника

В определенных вариантах осуществления комбинированная терапия лечит рак, который представляет собой рак яичников, фаллопиевой трубы и первичный рак брюшины ("рак яичников"). В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак эпителия яичников. В других вариантах осуществления рак представляет собой эмбрионально-клеточную опухоль яичников. В еще других вариантах осуществления рак представляет собой пограничную опухоль яичника. В вариантах осуществления рак яичника начинается в ткани, которая покрывает яичники, брюшину или фаллопиеву трубу. (См. <http://www.cancer.gov/types/ovarian/patient/ovarian-epithelial-treatment-pdq>, последний раз посещенный 9 декабря 2015 г.).

Существует четыре стадии рака яичников: стадия I, стадия II, стадия III и стадия IV, которые охватывают ранний, распространенный и рецидивирующий или персистирующий рак яичников. Существует четыре типа стандартных методов лечения, которые применяют для пациентов с раком яичников, фаллопиевой трубы и первичным раком брюшины: 1) хирургическое вмешательство, включая гистерэктомию, одностороннюю сальпингоофорэктомию, двустороннюю сальпингоофорэктомию, оментэктомию и биопсию лимфатических узлов; 2) лучевая терапия; 3) химиотерапия и 4) таргетная терапия, включающая терапию моноклональными антителами и ингибиторами поли(ADP-рибоза)-полимеразы. Терапии биоло-

гическими препаратами также тестировали в отношении рака яичников. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению лечит рак яичников вместе со стандартной терапией.

Существует четыре стадии эмбрионально-клеточных опухолей яичников: стадия I, стадия II, стадия III и стадия IV. Применяют четыре вида стандартного лечения: 1) хирургическое вмешательство, включая одностороннюю сальпингоофоректомию, тотальную гистерэктомию, двустороннюю сальпингоофоректомию и циторедуктивное оперативное вмешательство; 2) наблюдение; 3) химиотерапию и 4) лучевую терапию. Рассматриваются новые варианты лечения, которые включают химиотерапию в высоких дозах с трансплантацией костного мозга. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению лечит эмбрионально-клеточную опухоль яичников вместе со стандартной терапией.

Существует 3 стадии пограничных опухолей яичника: 1) ранняя стадия (стадия I и II), 2) поздняя стадия (стадия III и IV) и 3) рецидив. Применяют два типа стандартного лечения: 1) хирургическое вмешательство, включая одностороннюю сальпингоофоректомию, двустороннюю сальпингоофоректомию, тотальную гистерэктомию, частичную овариэктомию и оментэктомию, и 2) химиотерапию. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению лечит пограничную опухоль яичника вместе со стандартной терапией.

Рак головы и шеи

В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия лечит рак, который представляет собой рак головы и шеи. Рак головы и шеи включает рак полости рта, глотки, гортани, околоносовых пазух, а также полости носа и слюнных желез. Рак головы и шеи обычно начинается в плоскоклеточных клетках, которые выстилают влажные слизистые поверхности внутри головы и шеи (например, внутри рта, носа и горла). Эти виды плоскоклеточного рака часто называют плоскоклеточными карциномами головы и шеи. Рак головы и шеи также может начаться в слюнных железах, но рак слюнных желез встречается относительно редко. (См. <http://www.cancer.gov/types/head-and-neck/head-neck-fact-sheet>, последнее посещение 9 декабря 2015 г.). План лечения индивидуального пациента зависит от ряда факторов, включая точное местоположение опухоли, стадию рака, а также возраст и общее состояние здоровья человека. Лечение рака головы и шеи может включать хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию, таргетную терапию или комбинацию терапий. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению лечит рак головы и шеи вместе со стандартной терапией.

Иммунотерапия рака легкого

Существует явная потребность в эффективных средствах для пациентов, у которых наблюдалось прогрессирование после нескольких линий таргетной терапии, а также в терапиях, которые увеличивают выживаемость в течение более длительных периодов по сравнению с существующими стандартными способами лечения. Новые подходы, включающие иммунотерапию, в особенности блокаду иммунных контрольных точек, включая пути ингибирования CTLA-4, PD-1 и PD-L1, в последнее время продемонстрировали многообещающую перспективу (Steel an et al., 2014). Таким образом, ипилимумаб в комбинации с химиотерапией демонстрирует обнадеживающие результаты при мелкоклеточном, а также немелкоклеточном раке легкого. Клинические испытания моноклональных антител ниволумаб, пембролизумаб, BMS-936559, MEDI4736 и MPDL3280A демонстрируют устойчивые общие показатели радиологического ответа в диапазоне от 20% до 25% при раке легких (Topalian et al., 2012a; Pardoll, 2012; WO 2013/173223; Creelan et al., 2014). Эта исключительная активность включает плоскоклеточный рак легких, население, исторически лишенное значительных терапевтических достижений.

Фармацевтические композиции и дозировки

Терапевтические агенты по настоящему изобретению могут быть составлены в композиции, например, фармацевтическую композицию, содержащую антитело и/или цитокин и фармацевтически приемлемый носитель. Используемый в настоящем документе "фармацевтически приемлемый носитель" включает любые и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и замедляющие абсорбцию агенты и т.п., которые являются физиологически совместимыми. Предпочтительно носитель для композиции, содержащей антитело, подходит для внутривенного, внутримышечного, подкожного, парентерального, спинального или эпидермального введения (например, путем инъекции или инфузии), тогда как носитель для композиции, содержащей антитело и/или цитокин, является подходящим для непарентерального, например, перорального введения. В некоторых вариантах осуществления подкожная инъекция основана на технологии доставки лекарственного средства ENHANZE® от Halozyme Therapeutics (см. патент США 7767429, который включен в настоящий документ путем ссылки в полном объеме). В основе платформы ENHANZE® лежит совместное составление Ab с рекомбинантным человеческим ферментом гиалуронидазой (rHuPH20), что позволяет снимать традиционные ограничения объемов биологических препаратов и лекарственных средств, которые могут быть доставлены подкожно из-за внеклеточного матрикса (см. патент США 7767429). Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может включать одну или несколько фармацевтически приемлемых солей, антиоксидантов, водных и неводных носителей и/или

адьювантов, таких как консерванты, смачивающие агенты, эмульгирующие агенты и диспергирующие агенты. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может, кроме того, содержать рекомбинантный человеческий фермент гиалуронидазу, например, rHuPH20. Схемы дозирования регулируют для обеспечения оптимального желаемого ответа, например, максимального терапевтического ответа и/или минимальным побочным эффектам. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят в дозе, основанной на массе. Для введения анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела, особенно в комбинации с другим противораковым агентом, дозировка может составлять от около 0,01 до около 20 мг/кг, от около 0,1 до около 10 мг/кг, от около 0,01 до около 5 мг/кг, от около 1 до около 5 мг/кг, от около 2 до около 5 мг/кг, от около 1 до около 3 мг/кг, от около 7,5 до около 12,5 мг/кг или от около 0,1 до около 30 мг/кг массы тела субъекта. Например, дозировки могут составлять около 0,1, около 0,3, около 1, около 2, около 3, около 5 или около 10 мг/кг массы тела, и более предпочтительно, 0,3, 1, 2, 3 или 5 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления дозировка анти-PD-1 антитела составляет 3 мг/кг массы тела.

В одном варианте осуществления схема дозирования для анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела по изобретению включает около 0,3-1 мг/кг массы тела, около 5 мг/кг массы тела, 1-5 мг/кг массы тела или около 1-3 мг/кг массы тела при внутривенном введении, при этом антитело вводят каждые 14-21 день в течение примерно до 6-недельного или примерно 12-недельного цикла до полного ответа или подтвержденного прогрессирования заболевания. В некоторых вариантах осуществления лечение антителами или любое комбинированное лечение, раскрытое в настоящем документе, продолжается в течение по меньшей мере около 1 месяца, по меньшей мере около 3 месяцев, по меньшей мере около 6 месяцев, по меньшей мере около 9 месяцев, по меньшей мере около 1 года, по меньшей мере около 18 месяцев, по меньшей мере около 24 месяцев, по меньшей мере около 3 лет, по меньшей мере около 5 лет или по меньшей мере около 10 лет.

Режим дозирования, как правило, разработана для достижения воздействий, которые приводят к длительной занятости рецепторов (RO) на основе типичных фармакокинетических свойств антитела. Примерный режим лечения включает введение один раз в неделю, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в месяц, один раз каждые 3-6 месяцев или дольше. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления анти-PD-1 антитело, такое как ниволумаб, вводят субъекту один раз в 2 недели. В других предпочтительных вариантах осуществления антитело вводят один раз в 3 недели. Анти-PD-1 антитело можно вводить по меньшей мере в двух дозах, при этом каждая из доз составляет от около 0,01 до около 5 мг/кг, например, 3 мг/кг, с интервалом дозирования каждые две недели между двумя дозами. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят по меньшей мере в трех, четырех, пяти, шести или семи дозах (т.е. многократных дозах), при этом каждая из доз составляет от около 0,01 до около 5 мг/кг, например 3 мг/кг, с интервалом дозирования каждые две недели между двумя соседними дозами. Дозировка и схема могут меняться в течение курса лечения. Например, режим дозирования для анти-PD-1 монотерапии может включать введение антитела: (i) каждые 2 недели в течение 6-недельного цикла; (ii) каждые 4 недели для шести доз, затем каждые три месяца; (iii) каждые 3 недели; или (iv) 3-10 мг/кг один раз с последующим 1 мг/кг каждые 2-3 недели. Принимая во внимание, что IgG4-антитело обычно имеет период полувыведения 2-3 недели, предпочтительный режим дозирования для анти-PD-1 антитела по изобретению составляет 0,3-10 мг/кг массы тела, предпочтительно 1-5 мг/кг массы тела, более предпочтительно 1-3 мг/кг массы тела посредством внутривенного введения, при этом антитело вводят каждые 14-21 день в течение 6-недельных или 12-недельных циклов до достижения полного ответа или подтвержденного прогрессирования заболевания.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят в фиксированной дозе. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят в фиксированной дозе в качестве монотерапии. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят в фиксированной дозе в комбинации с любой другой терапией, раскрытой в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления фиксированная доза анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела представляет собой дозу по меньшей мере около 100-600 мг, такую как по меньшей мере около 200-300 мг, по меньшей мере около 400- 500 мг или по меньшей мере около 240 мг, или по меньшей мере около 480 мг, такую как по меньшей мере около 60 мг, по меньшей мере около 80 мг, по меньшей мере около 100 мг, по меньшей мере около 120 мг, по меньшей мере около 140 мг, по меньшей мере около 160 мг, по меньшей мере около 180 мг, по меньшей мере около 200 мг, по меньшей мере около 220 мг, по меньшей мере около 240 мг, по меньшей мере около 260 мг, по меньшей мере около 280 мг, по меньшей мере около 320 мг, по меньшей мере около 360 мг, по меньшей мере около 400 мг, по меньшей мере около 440 мг, по меньшей мере около 480 мг, по меньшей мере около 520 мг, по меньшей мере около 560 мг, по меньшей мере около 600 мг, или по меньшей мере около 660 мг, или по меньшей мере около 720 мг. В некоторых вариантах осуществления фиксированная доза анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела представляет собой дозу по меньшей мере около 600-1200 мг. В некоторых вариантах осуществления фиксированная доза анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела представляет собой дозу по меньшей мере около 600 мг, по меньшей мере около 640 мг, по меньшей мере около 680 мг, по меньшей мере около 720 мг, по меньшей мере около 760 мг, по меньшей мере около 800

мг, по меньшей мере около 840 мг, по меньшей мере около 880 мг, по меньшей мере около 920 мг, по меньшей мере около 960 мг, по меньшей мере около 1000 мг, по меньшей мере около 1040 мг, по меньшей мере около 1080 мг, по меньшей мере около 1120 мг, по меньшей мере около 1160 мг или по меньшей мере около 1200 мг. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе по меньшей мере около 240 мг или по меньшей мере около 480 мг один раз каждые 2 или 4 недели. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в дозе по меньшей мере около 240 мг или по меньшей мере около 480 мг один раз примерно каждые 2 или 4 недели. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят в дозе по меньшей мере около 720 мг. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят в дозе по меньшей мере около 960 мг. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят в дозе по меньшей мере около 1200 мг.

В других вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в более высокой дозе, то есть превышающей по меньшей мере около 240 мг. В случае применения в комбинации с другими противораковыми агентами дозировка анти-PD-1 антитела может быть снижена по сравнению с дозой, применяемой в монотерапии. Например, доза ниволумаба, которая значительно ниже, чем обычные 3 мг/кг каждые 3 недели, например, 0,1 мг/кг или менее каждые 3 или 4 недели, рассматривается как субтерапевтическая доза. Данные по занятости рецепторов от 15 субъектов, получавших дозу ниволумаба, составляющую от 0,3 до 10 мг/кг, указывают на то, что занятость PD-1, по видимому, не зависит от дозы в данном диапазоне доз. При всех дозах средняя занятость составила 85% (в диапазоне от 70% до 97%) со средним плато занятости, составляющим 72% (диапазон от 59% до 81%) (Brahmer et al., *J Clin Oncol* 28:3167-75 2010). Таким образом, дозирование 0,3 мг/кг может обеспечить достаточное воздействие для того, чтобы привести к максимальной биологической активности.

В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело вводят в фиксированной дозе со вторым агентом. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 антитело вводят в фиксированной дозе со вторым иммунотерапевтическим агентом. В некоторых вариантах осуществления соотношение анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела ко второму агенту, например, второму иммунотерапевтическому агенту составляет по меньшей мере около 1:1, около 1:2, около 1:3, около 1:4, около 1:5, около 1:6, около 1:7, около 1:8, около 1:9, около 1:10, около 1:15, около 1:20, около 1:30, около 1:40, около 1:50, около 1:60, около 1:70, около 1:80, около 1:90, около 1:100, около 1:120, около 1:140, около 1:160, около 1:180, около 1:200, около 200:1, около 180:1, около 160:1, около 140:1, около 120:1, около 100:1, около 90:1, около 80:1, около 70:1, около 60:1, около 50:1, около 40:1, около 30:1, около 20:1, около 15:1, около 10:1, около 9:1, около 8:1, около 7:1, около 6:1, около 5:1, около 4:1, около 3:1 или около 2:1 мг.

Несмотря на то, что более высокое дозирование монотерапии ниволумаба до около 10 мг/кг каждые две недели было проведено без достижения максимальной переносимой дозы (MTD), значительные токсичности, о которых сообщалось в других исследованиях ингибиторов контрольных точек плюс антиангиогенной терапии (см., например, Johnson et al., 2013; Rini et al., 2011) свидетельствуют в пользу выбора дозы ниволумаба ниже 10 мг/кг.

Для комбинирования ниволумаба с другими противораковыми агентами данные агенты предпочтительно вводят в утвержденных для них дозировках. Лечение продолжают до тех пор, пока наблюдается клиническая польза, или до появления неприемлемой токсичности или прогрессирования заболевания. Тем не менее, в некоторых вариантах осуществления дозировки данных вводимых противораковых агентов значительно ниже, чем утвержденная дозировка, то есть субтерапевтическую дозировку агента вводят в комбинации с анти-PD-1 антителом или анти-PD-L1 антителом. Анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело можно вводить в дозе, которая, как было показано, демонстрирует самую высокую эффективность в качестве монотерапии в клинических испытаниях, например, около 3 мг/кг ниволумаба вводили один раз каждые три недели (Topalian et al., 2012a; Topalian et al., 2012), или при значительно более низкой дозе, т.е. в субтерапевтической дозе.

Дозировка и частота изменяются в зависимости от периода полувыведения антитела у субъекта. В целом, человеческие антитела показывают самый длинный период полувыведения, за ними следуют гуманизированные антитела, химерные антитела и нечеловеческие антитела. Дозировка и частота введения могут варьироваться в зависимости от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. При профилактическом применении относительно низкую дозу, как правило, вводят с относительно нечастыми интервалами в течение длительного периода времени. Некоторые пациенты продолжают получать лечение до конца своей жизни. При терапевтическом применении иногда требуется относительно высокая доза через относительно короткие промежутки времени до тех пор, пока прогрессирование заболевания не уменьшится или не прекратится, и предпочтительно, пока пациент не покажет частичное или полное облегчение симптомов заболевания. После этого пациенту может быть назначен профилактический режим.

Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут варьироваться таким образом, чтобы получить количество активного ин-

градиента, которое эффективно для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, не будучи чрезмерно токсичным для пациента. Выбранный уровень дозировки будет зависеть от множества фармакокинетических факторов, включая активность конкретных используемых композиций по настоящему изобретению, способа введения, времени введения, скорости выведения конкретного применяемого соединения, длительности лечения, других лекарственных средств, соединений и/или материалов, используемых в комбинации с конкретными применяемыми композициями, возраста, пола, массы, состояния, общего состояния здоровья и предыдущей истории болезни пациента, подлежащего лечению, и подобных факторов, хорошо известных в области медицины. Композиция по настоящему изобретению может быть введена посредством одного или более путей введения с использованием одного или более из множества способов, хорошо известных в данной области. Как будет понятно специалисту в данной области, путь и/или способ введения будет изменяться в зависимости от желаемых результатов.

Наборы

Кроме того, в объем настоящего изобретения включены наборы, содержащие иммунотерапию, например, анти-PD-1 антитело для терапевтического применения. Наборы обычно включают этикетку с указанием целевого назначения содержимого набора и инструкции по применению. Термин "этикетка" включает любой написанный или записанный материал, содержащийся на наборе или вместе с набором, или который иным образом сопровождает набор. Соответственно, данное изобретение обеспечивает набор для лечения субъекта, пораженного опухолью, при этом набор содержит: (а) дозировку в диапазоне от 0,1 до 10 мг/кг массы тела антитела или его антигенсвязывающей части, которое специфически связывается с рецептором PD-1 и ингибирует активность PD-1 ("анти-PD-1 антитело"); и (б) инструкции по применению анти-PD-1 антитела в способах, раскрытых в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой рак легкого, например, NSCLC. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления для лечения пациентов-людей набор содержит раскрытое в настоящем документе человеческое анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб или пембролизумаб.

В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает набор для комплексного геномного профилирования, раскрытого в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления набор, кроме того, включает инструкции по применению иммунотерапии, например, анти-PD-1 антитела, анти-PD-L1 антитела, анти-CTLA-4 антитела и/или цитокина у субъекта, идентифицированного как имеющего высокий статус ТМВ в соответствии со способами, раскрытыми в настоящем документе.

Все ссылки, цитированные выше, а также все ссылки, цитированные в настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Следующие примеры предлагаются в качестве иллюстрации, а не в качестве ограничения.

Примеры

Пример 1.

Исследование фазы 3 ниволумаба в первой линии на стадии IV или рецидивирующего немелкоклеточного рака легкого. ОБЗОР

Ниволумаб улучшает общую выживаемость (OS) по сравнению с доцетакселом при подвергнутом ранее лечению немелкоклеточном раке легкого (NSCLC). В этом открытом исследовании фазы 3 сравнивали ниволумаб в первой линии с химиотерапией в PD-L1 (лиганд-1 программируемой смерти клеток)-положительном NSCLC.

Пациентов, имеющих не подвергнутое лечению стадии IV/рецидивирующий NSCLC и $\geq 1\%$ -ную экспрессию PD-L1 в опухоли, рандомизировали 1:1 на получение ниволумаба в дозе 3 мг/кг один раз каждые 2 недели или проведение химиотерапии на основе платины. Первичной конечной точкой исследования являлась выживаемость без прогрессирования (PFS), приходящаяся на каждую независимую центральную оценку в слепом режиме у пациентов с экспрессией PD-L1 $\geq 5\%$.

У пациентов с $\geq 5\%$ -ной экспрессией PD-L1 (n = 423) медиана PFS составила 4,2 месяца при лечении ниволумабом по сравнению с 5,9 месяцами при применении химиотерапии (отношение рисков [HR], 1,15; доверительный интервал 95% [CI], от 0,91 до 1,45; P = 0,2511); медиана OS составила 14,4 против 13,2 месяцев (HR, 1,02; 95% CI, 0,80-1,30); 128 (60%) пациентов, рандомизированных на проведение химиотерапии, получали последующий ниволумаб. У пациентов с высокой мутационной нагрузкой опухоли (ТМВ; верхний тертиль) ниволумаб улучшил PFS (HR, 0,62; 95% CI, 0,38-1,00) и частоту объективного ответа (ORR; 46,8% против 28,3%) по сравнению с химиотерапией. Неблагоприятные события любой степени и степени 3/4, связанные с лечением, наблюдались у 71 и 18% пациентов, получавших ниволумаб, и у 92 и 51% пациентов, получавших химиотерапию, соответственно.

Ниволумаб не показал более высоких показателей PFS по сравнению с химиотерапией в ранее не подвергнутом лечению стадии IV/рецидивирующем NSCLC с $\geq 5\%$ -ной экспрессией PD-L1; показатель OS был сходным между группами. Ниволумаб имел благоприятный профиль безопасности по сравнению с химиотерапией. В этом первом исследовании фазы 3, включающем анализ ТМВ и клиническую пользу ингибитора PD-1/L1, результаты дают основание предположить, что ниволумаб улучшает ORR и PFS по сравнению с химиотерапией у пациентов с высокой ТМВ.

В течение последних двух десятилетий комбинированная химиотерапия на основе платины являлась стандартным лечением первой линии для пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого (NSCLC), у которых отсутствовали наведенные мутации.^{1,2} Однако химиотерапия обеспечивала только незначительный благоприятный эффект с ограниченной переносимостью. В фазе 3 клинических испытаний медиана выживаемости без прогрессирования заболевания (PFS) при применении химиотерапии на основе платины составляла от 4 до 6 месяцев, а медиана общей выживаемости (OS) составила от 10 до 13 месяцев.³⁻⁸

В двух исследованиях фазы 3 ниволумаб, антитело, ингибитор контрольных точек программируемой смерти 1 (PD-1), значительно улучшил OS по сравнению с доцетакселом у пациентов с метастатическим NSCLC, у которых наблюдалось прогрессирование заболевания во время или после химиотерапии на основе платины.⁹⁻¹¹ Благоприятный эффект наблюдался вне зависимости от экспрессии лиганда 1 PD-1 (PD-L1), но усиливался в неплоскоклеточном NSCLC с увеличением экспрессии PD-L1.^{9,10}

В мультикоортном исследовании фазы 1 у ранее не подвергнутых лечению пациентов с NSCLC (CheckMate 012),¹² предварительные данные в когорте, получавшей монотерапию ниволумабом (n = 20), показали длительные ответы и благоприятный профиль безопасности. Среди 10 пациентов с $\geq 5\%$ -ной экспрессией PD-L1 частота объективного ответа (ORR) составила 50%, показатель PFS через 24 недели составил 70%, и медиана PFS составила 10,6 месяцев.¹³ Хотя увеличение экспрессии PD-L1 было ассоциировано с более высоким благоприятным эффектом в расширенной когорте, клиническая активность также наблюдалась у пациентов с низкой или отсутствием экспрессии PD-L1.¹² По причине сложности иммунной системы изучаются биомаркеры ответа на иммуноонкологические агенты, помимо уровней экспрессии PD-L1. Полученные ранее данные поддерживают гипотезу о том, что высокая мутационная нагрузка опухоли (ТМВ) может повысить вероятность получения благоприятного эффекта от иммунотерапии, поскольку высокая ТМВ может усилить иммуногенность путем увеличения количества неоантигенов, которые распознаются Т-клетками как не-свои, что приводит к противоопухолевому иммунному ответу.¹⁴

Выполняли рандомизированное, открытое, международное исследование фазы 3, в котором сравнивали эффективность и безопасность ниволумаба и выбранной исследователем химиотерапии на основе платины в качестве терапии первой линии у пациентов со IV стадией или рецидивирующим NSCLC с $\geq 1\%$ -ной или $\geq 5\%$ -ной экспрессией PD-L1. Кроме того, был проведен поисковый анализ для оценки эффектов ТМВ на результаты лечения.

Способы Пациенты

Подходящие взрослые пациенты имели гистологически подтвержденный плоскоклеточный или неплоскоклеточный стадии IV/рецидивирующий NSCLC, ECOG PS 0-1, и измеряемое заболевание в соответствии с RECIST 1.1,¹⁵ и не получали предшествующей системной противоопухолевой терапии в качестве первичной терапии распространенного или метастатического заболевания. Пациенты с метастазами в центральной нервной системе подходили для участия в исследовании при условии адекватного лечения и неврологического возвращения к исходному состоянию за ≥ 2 недели до рандомизации. Подходящие для участия в исследовании пациенты не должны были принимать кортикостероиды, или принимали стабильную или уменьшающуюся суточную дозу ≤ 10 мг преднизона (или его эквивалента). Разрешалась предшествующая паллиативная лучевая терапия в случае завершения за ≥ 2 недели до рандомизации, и предшествующая адьювантная или неадьювантная химиотерапия за ≥ 6 месяцев до включения в исследование. Исключались пациенты с аутоиммунным заболеванием или известными мутациями EGFR или транслокациями ALK, чувствительные к доступной таргетной терапии. Рандомизировали только пациентов с $\geq 1\%$ -ной экспрессией PD-L1.

Анализ PD-L1 для отбора пациентов

Свежий или архивный образец опухоли, полученный путем биопсии, собранный за 6 месяцев до включения в исследование, тестировали на PD-L1 в централизованной лаборатории с использованием антитела 28-8.^{9,10}

Дизайн исследования и лечение

Пациентов, подходящих для участия в исследовании, рандомизировали (1:1) на получение ниволумаба 3 мг/кг каждые 2 недели или выбранной исследователем двойной химиотерапии на основе платины каждые 3 недели в течение 4-6 циклов (фиг. 2). Химиотерапию продолжали до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или завершения разрешенных циклов. Поддерживающий пеметрексед допускался у пациентов с неплоскоклеточным NSCLC, которые имели стабильное заболевание или ответ после 4 цикла. Лечение ниволумабом после прогрессирования разрешалось в случае соответствия определенным в протоколе критериям. Сопутствующее системное лечение кортикостероидами (курсы < 3 недель) разрешалось для неаутоиммунных состояний, включая, но без ограничения, связанные с лечением неблагоприятные события (АЕ) с потенциальной иммунологической причиной.

Рандомизацию стратифицировали по экспрессии PD-L1 ($< 5\%$ по сравнению с $\geq 5\%$) и гистологии опухоли (плоскоклеточная по сравнению с неплоскоклеточной). Пациенты, рандомизированные на про-

ведение химиотерапии, при прогрессировании согласно RECIST 1.1, оцененном исследователем и подтвержденном независимым радиологом, могли перейти на ниволумаб при условии соответствия критериям включения в исследование. Для химиотерапии допускаются приостановки приема препарата и снижение дозы в ≤ 2 раза из-за токсичности. Для ниволумаба разрешались приостановки приема препарата из-за токсичности, но не допускались снижения дозы.

Конечные точки и оценки

Первичной конечной точкой являлась выживаемость без прогрессирования (PFS) на основании независимой центральной оценки в слепом режиме (BICR) у пациентов с экспрессией PD-L1 $\geq 5\%$. Вторичные конечные точки включали выживаемость без прогрессирования (PFS) на основании BICR у всех рандомизированных пациентов (экспрессия PD-L1 $\geq 1\%$), общую выживаемость (OS) у пациентов с экспрессией PD-L1 $\geq 5\%$ и у всех рандомизированных пациентов, а также общую частоту ответов (ORR) на основании BICR у пациентов с экспрессией PD-L1 $\geq 5\%$.

Ответ опухоли оценивали каждые 6 недель до 48 недели и затем каждые 12 недель. Оценки безопасности включали регистрацию неблагоприятных событий (AE), классифицированных в соответствии с Общими терминологическими критериями неблагоприятных событий Национального института онкологии США, версия 4.0.

Поисковый анализ биомаркеров ТМВ

ТМВ, общее количество соматических миссенс-мутаций, определяли у пациентов, имеющих образцы опухолей и крови, достаточные для полноэкзомного секвенирования.

ДНК и РНК совместно выделяли из архивной опухолевой ткани с использованием набора Allprep DNA/RNA FFPE (Qiagen, Hilden, Germany). ДНК из цельной крови (ДНК зародышевой линии) выделяли с использованием набора QIAamp DNA Blood Midi Kit (Qiagen, Hilden, Germany), следуя инструкциям производителя.

Выделенные ДНК и РНК подвергали полноэкзому захвату и секвенированию. Геномную ДНК (150 нг) использовали для получения библиотеки с использованием набора реагентов Agilent SureSelectXT reagent kit (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) с модификациями на шариках согласно Fisher et al, 2011. (Fisher S, Barry A, Abreu J, et al. A scalable, fully automated process for construction of sequence-ready human exome targeted capture libraries. *Genome Biol.* 2011;12(1):R1). В общей сложности 500 нг обогащенной библиотеки использовали в гибридизации и захватывали с помощью приманки SureSelect All Exon v5 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). После гибридизации захваченные библиотеки очищали в соответствии с рекомендациями производителя и амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (11 циклов). Нормализованные библиотеки объединяли и секвенировали на Illumina HiSeq 2500 с использованием чтений 2×100 -bp спаренных концов; 45 млн чтений (100-кратное приблизительное среднее покрытие мишени) секвенировали для каждого образца.

Определение мутационной нагрузки опухоли проводили следующим образом. Данные по полноэкзому секвенированию использовали для определения мутационной нагрузки опухоли (общего количества миссенс-мутаций) для каждого пациента. Миссенс-мутации идентифицировали на основании парных данных полноэкзому секвенирования опухоли-зародышевой линии с использованием двух выявителей мутаций. (Weber JA и др. (2016). Sentieon DNA pipeline for variant detection - Software-only solution, over 20x faster than GATK 3.3 with identical results. *PeerJ PrePrints* 4:e1672v2; Saunders CT et al., Strelka: accurate somatic small-variant calling from sequenced tumor-normal sample pairs. *Bioinformatics* (2012) 28:1811-7.) Для расчета мутационной нагрузки опухоли использовали сочетание двух выявителей.

Для анализа эффективности пациентов распределяли по группам в соответствии с распределением ТМВ по тертилям. Границы тертилей составили от 0 до <100 , от 100 до 242 и ≥ 243 мутаций для низкой, средней и высокой ТМВ, соответственно.

Контроль за проведением исследования

Исследование было разработано, и данные были проанализированы совместно спонсором (Bristol-Myers Squibb) и руководящим комитетом (D.P.C., M.A.S., L.P.A. и M.R.) с участием отдельных авторов. Все исследователи собирали данные. Протокол исследования был одобрен институциональным контрольным советом или независимым этическим комитетом в каждом центре. Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями Международной конференции по гармонизации надлежащей клинической практики и Хельсинкской декларацией. Независимый комитет по мониторингу данных и безопасности обеспечил надзор за безопасностью и эффективностью. Этот отчет основан на окончательном анализе данных (закрытие доступа к базе данных 2 августа 2016 г.).

Статистические аспекты

Определение размера выборки для популяции, подлежащей первичному анализу эффективности (пациенты с экспрессией PD-L1 $\geq 5\%$), основано на предполагаемой медиане PFS, равной 7 месяцам, в группе химиотерапии и общем отношении рисков (HR), равном 0,71 в пользу ниволумаба. Предполагалось, что размер выборки ~ 415 пациентов обеспечит 80% мощности для выявления различия в эффекте лечения на первичную конечную точку с использованием теста логарифмических рангов с двусторонним уровнем значимости 5% после минимального последующего наблюдения ~ 18 месяцев у пациентов без

прогрессирования заболевания или смерти.

Сравнение PFS и OS между лечебными группами проводили с помощью двусторонних логарифмических тестов, стратифицированных по уровню экспрессии PD-L1 ($\geq 5\%$ против $< 5\%$; для конечных точек у всех рандомизированных пациентов) и гистологии опухоли. Для оценки HR и связанных с ними 95% CI использовали стратифицированную модель пропорциональной регрессии рисков Кокса, включающая рандомизированную лечебную группу в качестве единственной ковариаты. Метод Каплана-Мейера использовали для оценки кривых выживаемости. Показатели ORR сравнивали между лечебными группами с помощью двухстороннего стратифицированного критерия Кохрана-Мантеля-Хензеля. Метод Клоппера-Пирсона использовали для оценки показателей ORR и их точных 95% CI.

Результаты

Пациенты и лечение

Из 1325 пациентов, включенных в исследование, 541 (40,8%) были рандомизированы, 271 на получение ниволумаба и 270 на проведение химиотерапии; 784 (59%) пациентов не были рандомизированы из-за не поддающихся оценке на PD-L1 образцов (6%), PD-L1 $< 1\%$ (23%) или несоответствия другим критериям исследования (30%). Во время скрининга 746 из 1047 (71,3%) пациентов с поддающимися оценке результатами PD-L1 имели экспрессию PD-L1 $\geq 1\%$. В целом, 530 пациентов (98,0% всех рандомизированных пациентов) получили лечение (фиг. 1 и табл. 18). Популяция для первичного анализа эффективности (пациенты с экспрессией PD-L1 $\geq 5\%$) составила 78,2% от всех рандомизированных пациентов. Медиана времени от постановки диагноза до рандомизации всех пациентов составила 1,9 месяцев (диапазон от 0,3 до 214,9) и 2,0 месяца (диапазон от 0,5 до 107,3) в группах ниволумаба и химиотерапии, соответственно, при этом 75,6% и 71,9% пациентов были распределены в соответствующие лечебные группы через ≤ 3 месяца после постановки диагноза. В целом, 38,6% пациентов ранее получали лучевую терапию.

Таблица 18. Краткое описание завершения лечения (все подвергнутые лечению пациенты)

	Ниволумаб n = 267	Химиотерапия n = 263
Пациенты, продолжающие участие в лечебном периоде, n (%)	43 (16.1)	12 (4.6)
Пациенты, не продолжающие участие в лечебном периоде, n (%)	224 (83.9)	251 (95.4)
Причины прекращения продолжения участия в лечебном периоде, n (%)		
Прогрессирование заболевания	168 (62.9)	142 (54.0)
Токсичность исследуемого лекарственного средства	27 (10.1)	30 (11.4)
Смерть	1 (0.4)	0
Неблагоприятное событие, не связанное с исследуемым лекарственным средством	20 (7.5)	21 (8.0)
Просьба пациента о прекращении лечения в рамках исследования	5 (1.9)	9 (3.4)
Отзыв согласия пациента	2 (0.7)	1 (0.4)
Максимальный клинический эффект	0	18 (6.8)
Несоблюдение режима лечения	1 (0.4)	0
Другие	0	1 (0.4)
Завершили требуемые циклы лечения	0	29 (11.0)

Исходные характеристики в целом были сбалансированы между группами лечения, за исключением того, что группа химиотерапии имела более высокие доли пациентов женского пола (45,2% против 32,1%) и пациентов с $\geq 50\%$ экспрессией PD-L1 (46,7% против 32,5%); в то время как в группе ниволумаба была более высокая доля пациентов с метастазами в печени (19,9% против 13,3%) и более высокой опухолевой нагрузкой (на основе медианы суммы диаметров целевых поражений; табл. 19).

Таблица 19. Исходные характеристики всех рандомизированных пациентов

Характеристика	Ниволумаб (n = 271)	Химиотерапия (n = 270)	Всего (N = 541)
Возраст — лет			
Медиана	63	65	64
Диапазон	32–89	29–87	29–89
Возрастная категория — кол-во (%)			
<65 лет	148 (54.6)	133 (49.3)	281 (51.9)
≥65 - <75 лет	93 (34.3)	105 (38.9)	198 (36.6)
≥75 лет	30 (11.1)	32 (11.9)	62 (11.5)
Пол — кол-во (%)			
Мужской	184 (67.9)	148 (54.8)	332 (61.4)
Женский	87 (32.1)	122 (45.2)	209 (38.6)
Раса — кол-во (%)			
Белые	228 (84.1)	242 (89.6)	470 (86.9)
Черные	6 (2.2)	10 (3.7)	16 (3.0)
Азиаты	30 (11.1)	17 (6.3)	47 (8.7)
Американские индейцы или коренное население Аляски	1 (0.4)	0	1 (0.2)
Другие	6 (2.2)	1 (0.4)	7 (1.3)
Стадия заболевания - кол-во (%)			
Стадия IV	255 (94.1)	244 (90.4)	499 (92.2)
Рецидивирующее	16 (5.9)	25 (9.3)	41 (7.6)
Не сообщается	0	1 (0.4)	1 (0.2)
Показатель общего состояния по шкале ECOG – кол-во (%)			
0	85 (31.4)	93 (34.4)	178 (32.9)
1	183 (67.5)	174 (64.4)	357 (66.0)
≥2	2 (0.7)	3 (1.1)	5 (0.9)
Не сообщается	1 (0.4)	0	1 (0.2)
Статус курения – кол-во (%)			
Никогда не курили	30 (11.1)	29 (10.7)	59 (10.9)
Бывшие курильщики	186 (68.6)	182 (67.4)	368 (68.0)
Текущие курильщики	52 (19.2)	55 (20.4)	107 (19.8)
Неизвестно	3 (1.1)	4 (1.5)	7 (1.3)
Предыдущая системная терапия – кол-во (%)			
Адьювантная терапия	22 (8.1)	25 (9.3)	47 (8.7)
Неоадьювантная терапия	5 (1.8)	4 (1.5)	9 (1.7)
Предшествующая лучевая терапия – кол-во (%)	102 (37.6)	107 (39.6)	209 (38.6)
Гистология опухоли – кол-во (%)			
Плоскоклеточная карцинома	66 (24.4)	64 (23.7)	130 (24.0)
Неплоскоклеточная карцинома	205 (75.6)	206 (76.3)	411 (76.0)
Выбранные участки метастатических поражений – кол-во (%)			
Головной мозг	33 (12.2)	36 (13.3)	69 (12.8)
Печень	54 (19.9)	36 (13.3)	90 (16.6)
Медиана суммы диаметров целевых поражений, мм (диапазон)	82.5 (14–218)	68.0 (15–272)	76.0 (14–272)
Уровень экспрессии PD-L1 – кол-во (%)			
≥5%	208 (76.8)	210 (77.8)	418 (77.3)
≥25%	132 (48.7)	164 (60.7)	296 (54.7)
≥50%	88 (32.5)	126 (46.7)	214 (39.6)
≥75%	56 (20.7)	74 (27.4)	130 (24.0)

ECOG обозначает Восточную кооперативную онкологическую группу Минимальный период последующего наблюдения в отношении общей выживаемости (OS) составил 13,7 месяцев. Медиана продолжительности терапии составила 3,7 месяцев (диапазон от 0,0 до 26,9+) для ниволумаба и 3,4 месяца (диапазон от 0,0 до 20,9+) для химиотерапии (схемы показаны в табл. 20); 38,0% подвергнутых лечению пациентов получали поддерживающую терапию пеметрекседом. Всего 77 (28,8%) рандомизированных пациентов, подвергнутых лечению ниволумабом, получали ниволумаб после прогрессирования согласно RECIST 1.1 по оценкам исследователя; 26 получали >6 доз ниволумаба после прогрессирования.

Таблица 20. Лечение в рамках исследования с применением химиотерапии (все подвергнутые лечению пациенты)

Лечение в рамках исследования, n (%)	Химиотерапия n = 263
Пеметрексед/карбоплатин	115 (43.7)
Пеметрексед/цисплатин	86 (32.7)
Гемцитабин/карбоплатин	33 (12.5)
Гемцитабин/цисплатин	13 (4.9)
Паклитаксел/карбоплатин	16 (6.1)
Поддерживающий пеметрексед, n (%)	100 (38.0)

Среди пациентов с $\geq 5\%$ экспрессией PD-L1 в группе ниволумаба 43,6% получали последующую системную противораковую терапию, и 18,7% пациентов, подвергнутых лечению, оставались на ниволумабе на момент блокировки базы данных. В группе химиотерапии 64,2% пациентов получали последующую системную терапию, включая 60,4%, которые получали ниволумаб в качестве перекрестного лечения в рамках исследования (57,5%) и/или в клинической практике после исследования (3,3%) (табл. 21).

Таблица 21. Последующая системная терапия у пациентов с $\geq 5\%$ экспрессией PD-L1

	Ниволумаб n = 211	Химиотерапия n = 212
Последующая системная терапия, n (%)	92 (43.6)	136 (64.2)
Иммунотерапия, n (%)	3 (1.4)	128 (60.4)
Перекрестный ниволумаб	0	122 (57.5)
Ниволумаб после исследования	2 (0.9)	7 (3.3)
Ипилимумаб	1 (0.5)	0
Ингибиторы тирозинкиназы ALK/EGFR, n (%)	12 (5.7)	6 (2.8)
Экспериментальная терапия, n (%)	2 (0.9)	2 (0.9)
Химиотерапия и другие системные противораковые агенты, n (%)	88 (41.7)	30 (14.2)

Эффективность

Популяция для первичного анализа эффективности и все рандомизированные пациенты

В популяции для первичного анализа эффективности ($\geq 5\%$ экспрессии PD-L1) не наблюдалось значительного различия в PFS между лечебными группами (фиг. 3). Медиана PFS составила 4,2 месяца (95% CI, от 3,0 до 5,6) для ниволумаба и 5,9 месяцев (95% CI, от 5,4 до 6,9) для химиотерапии (HR, 1.15; 95% CI, 0,91-1,45; P=0,2511). Аналогичные результаты были получены для всех рандомизированных пациентов (фиг. 4).

Медиана OS в популяции для первичного анализа эффективности составила 14,4 месяца (95% CI, 11,7-17,4) для ниволумаба и 13,2 месяца (95% CI, 10,7-17,1) для химиотерапии (HR, 1,02; 95% CI, 0,80-1,30) (фиг. 5). Аналогичные результаты получены для всех рандомизированных пациентов (фиг. 6).

Показатель ORR среди пациентов с $\geq 5\%$ -ной экспрессией PD-L1 составил 26,1% для ниволумаба и 33,5% для химиотерапии; различие не было статистически значимым (табл. 22). По сравнению с группой ниволумаба, группа химиотерапии имела более низкую долю пациентов с наилучшим ответом прогрессирующего заболевания (9,9% против 27,5%). Медиана времени до ответа была сходной в двух лечебных группах, тогда как медиана длительности ответа была более чем в два раза длиннее для ниволумаба, чем для химиотерапии (12,1 против 5,7 месяцев; табл. 22).

Таблица 22. Ответ опухоли для ниволумаба против химиотерапии у пациентов с $\geq 5\%$ экспрессией PD-L1.*

Переменная	Ниволумаб (n = 211)	Химиотерапия (n = 212)
Объективный ответ [†]		
Кол-во пациентов	55	71
% пациентов (95% CI)	26.1 (20.3–32.5)	33.5 (27.2–40.3)
Расчетное отношение рисков (95% CI)	0.70 (0.46–1.06)	
P-величина	0.0957	
Наилучший общий ответ — кол-во (%)		
Полный ответ	4 (1.9)	1 (0.5)
Частичный ответ	51 (24.2)	70 (33.0)
Стабильное заболевание	81 (38.4)	100 (47.2)
Прогрессирование заболевания	58 (27.5)	21 (9.9)
Не может быть определен	17 (8.1)	20 (9.4)
Время до ответа — мес. ^{‡§}		
Медиана	2.8	2.6
Диапазон	1.2–13.2	1.2–9.8
Продолжительность ответа — мес. ^{‡¶}		
Медиана	12.1	5.7
Диапазон	1.7–19.4+	1.4–21.0+

*Данные основаны на блокировке базы данных 2 августа 2016 г. PD-L1 обозначает лиганд программируемой смерти 1.

[†] Объективный ответ оценивали в соответствии с Критериями оценки ответа солидных опухолей, версия 1.1, путем независимой централизованной проверки. 95%-ный доверительный интервал (CI) основан на методе Клоппера-Пирсона. Анализ стратифицировали по гистологии опухоли. Отношение рисков с поправкой на страту и двустороннее P-значение рассчитывали с использованием метода Кохрана-Мантеля-Хензеля.

[‡] Анализ проводили с использованием данных от всех пациентов, которые имели ответ (55 пациентов в группе ниволумаба и 71 в группе химиотерапии по выбору исследователя).

[§] Время до ответа определяли как время от рандомизации до даты первого документированного полного или частичного ответа.

Результаты рассчитывали с использованием метода Каплана-Мейера. Длительность ответа определяли как время между датой первого ответа и датой первого зарегистрированного события прогрессирования, смерти или последней оценки опухоли, которая была оценена перед последующей терапией (данные, цензурированные по дате).

Выбранные подгруппы

В большинстве предварительно определенных подгрупп показатели PFS и OS согласовывались с общими результатами исследования (фиг. 7-8). Единственной предварительно определенной стратифицированной подгруппой являлась гистология; пациенты с плоскоклеточной гистологией имели количественно улучшенные показатели PFS и OS для ниволумаба по сравнению с химиотерапией (фиг. 7-8). В поисковом анализе подгрупп пациентов с $\geq 50\%$ экспрессией PD-L1 показатели HR для PFS и OS составили 1,07 (95% CI, 0,77-1,49) и 0,90 (95% CI, 0,63-1,29) соответственно. Показатель ORR составил 34,1% (95% CI, от 24,3 до 45,0%) для ниволумаба и 38,9% (95% CI, от 30,3 до 48,0%) для химиотерапии. Поскольку эта подгруппа не была стратифицирована, в группе ниволумаба имелось меньше пациентов, чем в группе химиотерапии (88 против 126), и дисбаланс по полу, отмеченный в общей популяции, был еще более выраженным в этой подгруппе (25,0% против 43,7% женщин).

Поисковый анализ проводили у 312 пациентов (57,7% рандомизированных пациентов для оценки влияния ТМВ на результаты лечения (табл. 23-25; фиг. 9-17)). Процент пациентов с высокой ТМВ (верхний тертиль, 33%) был разбалансирован между лечебными группами (ниволумаб: 29,7% против химиотерапии: 39,0%, табл. 25). Исходные характеристики, PFS и OS (табл. 24-25 и фиг. 14-15) в целом согласовывались со всеми рандомизированными пациентами.

Таблица 23. Отсев образцов во время определения мутационной нагрузки опухоли

Пациенты, n (%)	ДНК опухоли	ДНК зародышевой линии ^a
Рандомизированные	541 (100)	541 (100)
Образцы, доступные для выделения ДНК ^b	485 (90)	452 (84)
ДНК, доступная для секвенирования	408 (75)	452 (84)

Успешное получение библиотеки для секвенирования следующего поколения	402 (74)	452 (84)
Прохождение внутреннего контроля качества ^c	320 (59)	432 (80)
Совпадающие последовательности экзона опухоли-зародышевой линии для анализа ТМВ ^d	312 (58)	

^a Совпадающую ДНК зародышевой линии из цельной крови использовали для того, чтобы отличить однонуклеотидные полиморфизмы зародышевой линии от соматических миссенс-мутаций в ДНК опухоли.

^b Образцы не были доступны по разным причинам, включая, но без ограничения, отсутствие согласия пациента на фармакогенетическое исследование, образцы, израсходованные на тестирование PD-L1 или недостаточный отбор образцов ткани.

^c Внутренний контроль качества включал оценку факторов, включая, но без ограничения, несоответствие между опухолевой и зародышевой ДНК, слишком мало чтений последовательностей и слишком много повторяющихся чтений артефактных последовательностей.

^d Восемь пациентов с доступными последовательностями ДНК опухоли не имели совпадающих последовательностей ДНК зародышевой линии

Таблица 24. Исходные характеристики всех рандомизированных пациентов и пациентов с поддающимися оценке данными по мутациям опухолей

Характеристика	Все рандомизированные пациенты (n = 541)	Пациенты с поддающимися оценке данными ТМВ (n = 312)
Возраст, лет		
Медиана	64	65
Диапазон	29–89	32–89
Пол, n (%)		
Мужской	332 (61.4)	187 (59.9)
Женский	209 (38.6)	125 (40.1)
Стадия заболевания, n (%)		
Стадия IV	499 (92.2)	291 (93.3)
Рецидивирующее	41 (7.6)	20 (6.4)
Нет сообщений	0	1 (0.3)
Показатель общего состояния по шкале ECOG, n (%)		
0	178 (32.9)	100 (32.1)
1	357 (66.0)	208 (66.7)
≥2	5 (0.9)	3 (1.0)
Нет сообщений	1 (0.2)	1 (0.3)
Статус курения, n (%)		
Никогда не курили	59 (10.9)	29 (9.3)
Бывшие курильщики	368 (68.0)	223 (71.5)
Текущие курильщики	107 (19.8)	56 (17.9)
Неизвестно	7 (1.3)	4 (1.3)
Гистология опухоли, n (%)		
Плоскоклеточная карцинома	130 (24.0)	71 (22.8)
Неплоскоклеточная карцинома	411 (76.0)	241 (77.2)
Уровень экспрессии PD-L1, n (%)		
≥5%	418 (77.3)	252 (80.8)
≥25%	296 (54.7)	185 (59.3)
≥50%	214 (39.6)	130 (41.7)
Мутационная нагрузка опухоли, n (%)		

ECOG = Восточная кооперативная онкологическая группа

Таблица 25. Исходные характеристики пациентов с поддающимися оценке данными по мутациям опухолей по лечебным группам

Характеристика	Ниволумаб (n = 158)	Химиотерапия (n = 154)
Возраст, лет		
Медиана	65	64
Диапазон	32–89	34–87
Возрастная категория, n (%)		
<65 лет	76 (48.1)	78 (50.6)
≥65 - <75 лет	59 (37.3)	57 (37.0)
≥75 лет	23 (14.6)	19 (12.3)
Пол, n (%)		
Мужской	105 (66.5)	82 (53.2)
Женский	53 (33.5)	72 (46.8)
Раса, n (%)		
Белые	126 (79.7)	135 (87.7)
Черные	4 (2.5)	6 (3.9)
Азиаты	22 (13.9)	12 (7.8)
Американские индейцы или коренное население Аляски	1 (0.6)	0
Другие	5 (3.2)	1 (0.6)
Стадия заболевания, n (%)		
Стадия IV	150 (94.9)	141 (91.6)
Рецидивирующее	8 (5.1)	12 (7.8)
Нет сообщений	0	1 (0.6)
Показатель общего состояния по шкале ECOG, n (%)		
0	46 (29.1)	54 (35.1)
1	110 (69.6)	98 (63.6)
≥2	1 (0.6)	2 (1.3)
Нет сообщений	1 (0.6)	0
Статус курения, n (%)		
Никогда не курили	16 (10.1)	13 (8.4)
Бывшие курильщики	116 (73.4)	107 (69.5)
Текущие курильщики	24 (15.2)	32 (20.8)
Неизвестно	2 (1.3)	2 (1.3)
Предшествующая системная терапия, n (%)		
Адьювантная	13 (8.2)	12 (7.8)
Неадьювантная	2 (1.3)	2 (1.3)
Предшествующая лучевая терапия, n (%)		
51 (32.3)	60 (39.0)	
Гистологич опухоли, n (%)		
Плоскоклеточная карцинома	36 (22.8)	35 (22.7)
Неплоскоклеточная карцинома	122 (77.2)	119 (77.3)
Выбранные участки метастатических поражений, n (%)		
Головной мозг	18 (11.4)	21 (13.6)
Печень	34 (21.5)	31 (20.1)
Медиана суммы диаметров целевых поражений, мм (диапазон)	79.5 (14–218)	70 (15–272)
Уровень экспрессии PD-L1, n (%)		
≥5%	125 (79.1)	127 (82.5)
≥25%	86 (54.4)	99 (64.3)
≥50%	57 (36.1)	73 (47.4)
Мутационная нагрузка опухоли, n (%)		
Низкая (<33 процентиля)	62 (39.2)	41 (26.6)
Средняя (33–66 процентиля)	49 (31.0)	53 (34.4)
Высокая (>66 процентиля)	47 (29.7)	60 (39.0)

ECOG = Восточная кооперативная онкологическая группа

У пациентов с высокой ТМВ показатель ORR был более высоким в группе ниволумаба (46,8%), чем в группе химиотерапии (28,3%) (табл. 26). Показатель PFS был улучшен при применении ниволумаба по сравнению с химиотерапией (медиана, 9,7 против 5,8 месяцев) у пациентов с высокой ТМВ (HR, 0,62; 95% CI, от 0,38 до 1,00; фиг. 9). Показатель OS был схожим между группами независимо от ТМВ (фиг. 11-12); однако 65% пациентов с высокой ТМВ в группе химиотерапии получали ниволумаб после перекрестной терапии. Значительной связи между ТМВ и экспрессией PD-L1 не наблюдалось (коэффициент корреляции Пирсона = 0,059; фиг. 18).

Таблица 26. Ответ со стороны мутационной нагрузки опухоли у поддающихся оценке пациентов

	Мутационная нагрузка опухоли			
	Низкая	Средняя	Низкая/средняя (объединенная)*	Высокая
Ниволумаб	n = 62	n = 49	n = 111	n = 47
Полный или частичный ответ, n (%)	11 (17.7)	14 (28.6)	25 (22.5)	22 (46.8)
Стабильное заболевание, n (%)	25 (40.3)	20 (40.8)	45 (40.5)	15 (31.9)
Прогрессивное заболевание, n (%)	21 (33.9)	11 (22.4)	32 (28.9)	7 (14.9)
Не может быть определен, n (%)	5 (8.1)	4 (8.2)	9 (8.1)	3 (6.4)
Химиотерапия	n = 41	n = 53	n = 104	n = 60
Полный или частичный ответ, n (%)	16 (39.0)	15 (28.3)	31 (29.8)	17 (28.3)
Стабильное заболевание, n (%)	19 (46.3)	30 (56.6)	49 (47.1)	32 (53.3)
Прогрессивное заболевание, n (%)	1 (2.4)	3 (5.7)	4 (3.8)	7 (11.7)
Не может быть определен, n (%)	5 (12.2)	5 (9.4)	10 (9.6)	4 (6.7)

*Данные для пациентов с низкой и средней мутационной нагрузкой опухоли были объединены, потому что медиана PFS была одинаковой для низкой и средней мутационной нагрузки опухоли в обеих лечебных группах

Безопасность

Связанные с лечением АЕ любой степени встречались у 71,2% и 92,4% пациентов, получавших лечение ниволумабом и химиотерапией, соответственно; доля пациентов с АЕ 3/4 степени, связанными с лечением, была более низкой для ниволумаба (17,6%) по сравнению с химиотерапией (50,6%) (табл. 11-12). Частота случаев серьезных АЕ, связанных с лечением, была схожей для ниволумаба и химиотерапии; однако связанные с лечением АЕ, приводящие к прекращению приема исследуемого препарата, встречались реже для ниволумаба по сравнению с химиотерапией (9,7% против 13,3%; табл. 27 и 29-31).

Таблица 27. Неблагоприятные события, связанные с лечением, возникали по меньшей мере у 10% пациентов, получавших лечение ниволумабом или химиотерапией

Событие	Ниволумаб (n = 267)		Химиотерапия (n = 263)	
	Любая степень	Степень 3 или 4	Любая степень	Степень 3 или 4
	<i>кол-во пациентов с событием (процент)</i>			
Любое событие	190 (71.2)	47 (17.6)	243 (92.4)	133 (50.6)
Любое серьезное событие	46 (17.2)	35 (13.1)	48 (18.3)	41 (15.6)
Любое событие, приводящее к прекращению участия в исследовании	26 (9.7)	21 (7.9)	35 (13.3)	17 (6.5)
Утомляемость	56 (21.0)	3 (1.1)	93 (35.4)	14 (5.3)
Диарея	37 (13.9)	3 (1.1)	34 (12.9)	5 (1.9)
Сниженный аппетит	32 (12.0)	1 (0.4)	73 (27.8)	4 (1.5)
Тошнота	31 (11.6)	1 (0.4)	127 (48.3)	5 (1.9)
Сыпь	26 (9.7)	2 (0.7)	15 (5.7)	1 (0.4)
Рвота	15 (5.6)	0	60 (22.8)	5 (1.9)
Запор	9 (3.4)	0	29 (11.0)	0
Анемия	9 (3.4)	1 (0.4)	113 (43.0)	46 (17.5)
Астения	8 (3.0)	0	28 (10.6)	4 (1.5)
Тромбоцитопения	2 (0.7)	1 (0.4)	38 (14.4)	22 (8.4)
Пониженное число тромбоцитов	2 (0.7)	0	33 (12.5)	9 (3.4)
Пониженное число нейтрофилов	1 (0.4)	1 (0.4)	36 (13.7)	20 (7.6)
Нейтропения	0	0	48 (18.3)	29 (11.0)

*Данные основаны на базе данных, которая была заблокирована 2 августа 2016 г. Анализ безопасности включал всех пациентов, которые получили по меньшей мере одну дозу исследуемого лекарственного средства. Включенными являются события, о которых сообщалось в период с момента введения первой дозы исследуемого лекарственного средства до 30 дней после введения последней дозы, или до момента введения первой дозы перекрестного ниволумаба, в зависимости от того, что наступает раньше

Таблица 28. Связанные с лечением побочные эффекты у $\geq 5\%$ пациентов, получавших лечение ниволумабом или химиотерапией

Событие, n (%)	Ниволумаб n = 267		Химиотерапия n = 263	
	Любая степень	Степень 3– 4	Любая степень	Степень 3–4
Любое событие	190 (71.2)	47 (17.6)	243 (92.4)	133 (50.6)
Утомляемость	56 (21.0)	3 (1.1)	93 (35.4)	14 (5.3)
Диарея	37 (13.9)	3 (1.1)	34 (12.9)	5 (1.9)
Пониженный аппетит	32 (12.0)	1 (0.4)	73 (27.8)	4 (1.5)
Тошнота	31 (11.6)	1 (0.4)	127 (48.3)	5 (1.9)
Сыпь	26 (9.7)	2 (0.7)	15 (5.7)	1 (0.4)
Повышенный уровень аспаратаминотрансферазы	23 (8.6)	7 (2.6)	12 (4.6)	1 (0.4)
Зуд	22 (8.2)	0	7 (2.7)	1 (0.4)
Повышенный уровень аланинаминотрансферазы	19 (7.1)	7 (2.6)	14 (5.3)	2 (0.8)
Гипотиреоз	17 (6.4)	0	1 (0.4)	0
Рвота	15 (5.6)	0	60 (22.8)	5 (1.9)
Лизорадка	14 (5.2)	0	13 (4.9)	1 (0.4)
Макулопапулезная сыпь	14 (5.2)	1 (0.4)	4 (1.5)	0
Запор	9 (3.4)	0	29 (11.0)	0
Анемия	9 (3.4)	1 (0.4)	113 (43.0)	46 (17.5)
Астения	8 (3.0)	0	28 (10.6)	4 (1.5)
Дисгевзия	7 (2.6)	0	21 (8.0)	0
Периферический отек	6 (2.2)	0	22 (8.4)	0
Повышенный уровень креатинина в крови	5 (1.9)	1 (0.4)	16 (6.1)	0
Стоматит	5 (1.9)	0	15 (5.7)	1 (0.4)
Гипомагниемия	4 (1.5)	0	25 (9.1)	2 (0.8)
Воспаление слизистой	4 (1.5)	0	20 (7.6)	0
Алопеция	3 (1.1)	0	23 (8.7)	0
Тромбоцитопения	2 (0.7)	1 (0.4)	38 (14.4)	22 (8.4)
Пониженное число тромбоцитов	2 (0.7)	0	33 (12.5)	9 (3.4)
Пониженное число лейкоцитов	2 (0.7)	0	26 (9.9)	9 (3.4)
Пониженное число нейтрофилов	1 (0.4)	1 (0.4)	36 (13.7)	20 (7.6)
Периферическая сенсорная нейропатия	1 (0.4)	0	15 (5.7)	0
Нейтропения	0	0	48 (18.3)	29 (11.0)
Лейкопения	0	0	16 (6.1)	9 (3.4)

Таблица 29. Серьезные неблагоприятные события, связанные с лечением, у $\geq 2\%$ пациентов, получавших лечение ниволумабом или химиотерапией

Событие, n (%)	Ниволумаб		Химиотерапия	
	n = 267		n = 263	
	Любая степень	Степень 3–4	Любая степень	Степень 3–4
Любое событие	46 (17.2)	35 (13.1)	48 (18.3)	41 (15.6)
Пневмония	7 (2.6)	4 (1.5)	0	0
Повышенный уровень аспаратаминотрансферазы	6 (2.2)	6 (2.2)	0	0
Анемия	0	0	13 (4.9)	10 (3.8)
Лихорадочная нейтропения	0	0	6 (2.3)	6 (2.3)
Тромбоцитопения	0	0	6 (2.3)	6 (2.3)

Таблица 30. Связанные с лечением неблагоприятные события, приводящие к прерыванию лечения ниволумабом

Событие, n (%)	Ниволумаб n = 267	
	Любая степень	Степень 3–4
Любое событие	26 (9.7)	21 (7.9)
Повышенный уровень аспаратаминотрансферазы	5 (1.9)	5 (1.9)
Повышенный уровень аланинаминотрансферазы	5 (1.9)	5 (1.9)
Пневмония	3 (1.1)	3 (1.1)
Колит	2 (0.7)	2 (0.7)
Повышенный уровень трансаминаз	1 (0.4)	1 (0.4)
Интерстициальное заболевание легких	1 (0.4)	1 (0.4)
Аутоиммунный колит	1 (0.4)	0
Диарея	1 (0.4)	0
Гастрит	1 (0.4)	0
Тошнота	1 (0.4)	1 (0.4)
Сыпь	1 (0.4)	1 (0.4)
Макулопапулезная сыпь	1 (0.4)	1 (0.4)
Папулезная сыпь	1 (0.4)	1 (0.4)
Синдром Стивенса-Джонсона	1 (0.4)	1 (0.4)
Чувство общего недомогания	1 (0.4)	0
Функциональная недостаточность многих органов	1 (0.4)	1 (0.4)
Недостаточность надпочечников	1 (0.4)	1 (0.4)
Холестатический синдром	1 (0.4)	1 (0.4)
Гиперчувствительность	1 (0.4)	1 (0.4)
Артрит	1 (0.4)	0
Злокачественный перикардиальный выпот	1 (0.4)	1 (0.4)
Афазия	1 (0.4)	1 (0.4)
Спутанность сознания	1 (0.4)	1 (0.4)

Таблица 31. Связанные с лечением неблагоприятные события, приводящие к прерыванию химиотерапии

Событие, n (%)	Химиотерапия n = 263	
	Любая степень	Степень 3–4
Любое событие	35 (13.3)	17 (6.5)
Анемия	5 (1.9)	3 (1.1)
Повышенный уровень креатинина в крови	5 (1.9)	0
Лихорадочная нейтропения	4 (1.5)	4 (1.5)
Нейтропения	3 (1.1)	1 (0.4)
Утомляемость	3 (1.1)	2 (0.8)
Общее ухудшение физического здоровья	2 (0.8)	2 (0.8)
Пониженный аппетит	2 (0.8)	1 (0.4)
Астения	2 (0.8)	0
Хроническое заболевание почек	2 (0.8)	0
Инфаркт почки	1 (0.4)	1 (0.4)
Почечная недостаточность	1 (0.4)	0
Отклоняющаяся от нормы проба функции почек	1 (0.4)	0
Тромбоцитопения	1 (0.4)	1 (0.4)
Инфаркт миокарда	1 (0.4)	1 (0.4)
Пневмония	1 (0.4)	1 (0.4)
Рожа	1 (0.4)	1 (0.4)
Сепсис	1 (0.4)	1 (0.4)
Бронхоспазм	1 (0.4)	1 (0.4)
Пневмония	1 (0.4)	0
Желудочно-кишечное кровотечение	1 (0.4)	1 (0.4)
Тошнота	1 (0.4)	0
Рвота	1 (0.4)	0
Нейротоксичность	1 (0.4)	0
Периферическая сенсорная нейропатия	1 (0.4)	0
Шум в голове	1 (0.4)	0
Периферический отек	1 (0.4)	0

Наиболее распространенные, связанные с лечением, отобранные АЕ (те, которые имели потенциальную иммунологическую причину) относились к событиям, связанным с кожей, в группе ниволумаба и желудочно-кишечные события в группе химиотерапии (табл. 32).

Таблица 32. Выбранные неблагоприятные события^a у пациентов, связанные с лечением ниволумабом или химиотерапией

Категория выбранных неблагоприятных событий, n (%)	Ниволумаб n = 267		Химиотерапия n = 263	
	Любая степень	Степень 3–4	Любая степень	Степень 3–4
Кожа	63 (23.6)	5 (1.9)	25 (9.5)	1 (0.4)
Желудочно-кишечные	39 (14.6)	6 (2.2)	34 (12.9)	5 (1.9)
Печеночные	33 (12.4)	9 (3.4)	26 (9.9)	2 (0.8)
Легочные	14 (5.2)	6 (2.2)	1 (0.4)	0
Гиперчувствительность/инфузионная реакция	11 (4.1)	1 (0.4)	3 (1.1)	1 (0.4)
Почечные	5 (1.9)	1 (0.4)	18 (6.8)	0

^a Выбранные неблагоприятные события с потенциальной иммунологической этиологией, которые требуют частого наблюдения/вмешательства; включают события, о которых сообщалось в период с момента введения первой дозы исследуемого лекарственного средства до 30 дней после введения последней дозы или до момента введения первой дозы перекрестного ниволумаба, в зависимости от того, что происходило раньше

Пять смертельных случаев были связаны с исследуемым лечением, включая две смерти в группе ниволумаба (по одной в результате функциональной недостаточности многих органов и пневмонии) и три смерти в группе химиотерапии (одна от сепсиса и две от лихорадочной нейтропении).

Обсуждение

В данном исследовании не была достигнута первичная конечная точка превосходного показателя PFS для монотерапии первой линии ниволумабом по сравнению с химиотерапией у пациентов со стадией IV/рецидивирующим NSCLC и $\geq 5\%$ экспрессией PD-L1. Показатель OS был сходным в двух лечебных группах, выгодно отличаясь от исторических контролей химиотерапии первой линии на основе платины.³⁻⁸ Учитывая, что терапия ниволумабом продлевает выживаемость ранее подвергнутых лечению пациентов с распространенным NSCLC,^{9,10} высокая частота последующего лечения ниволумабом может способствовать благоприятному показателю OS в группе химиотерапии. Дисбаланс в исходных характеристиках может благоприятствовать группе химиотерапии, включая лучшие прогностические характеристики заболевания (то есть, меньшее количество метастазов в печени, более низкую опухолевую нагрузку и более высокую долю женщин).^{3,4,16}

Анализы, сравнивающие эффективность лечения у пациентов с $\geq 50\%$ экспрессией PD-L1, не были заранее определены в этом исследовании, и две группы имели значительный дисбаланс по количеству пациентов (88 против 126), тем самым ограничивая выводы, которые могут быть сделаны в этой подгруппе. Напротив, в исследовании KEYNOTE-024 проведена оценка активности пембролизумаба по сравнению с химиотерапией только у пациентов с распространенным NSCLC, экспрессирующим $\geq 50\%$ PD-L1, не получавших ранее химиотерапии.¹⁷ Другие различия между исследованиями изложены в недавней обзорной статье,¹⁸ но примеры включают различные тесты для оценки экспрессии PD-L1 в опухоли, критерии, относящиеся к предшествующей лучевой терапии и использованию кортикостероидов во время исследования, и дисбалансы в характеристиках пациентов между группами лечения (например, пол в исследовании и более низкий процент никогда не курящих в группе иммунотерапии KEYNOTE-024 [3,2%] против химиотерапии).^{17,18}

В KEYNOTE-024 была определена роль пембролизумаба в качестве терапии первой линии у пациентов с NSCLC с $\geq 50\%$ экспрессией PD-L1 (медиана PFS, 10,3 месяца; ORR, 45%); однако остается неудовлетворенная потребность для большинства пациентов в этой ситуации, и биомаркеры в дополнение к PD-L1 продолжают изучаться из-за сложности опухолево-иммунных взаимодействий для лучшего прогнозирования результатов с помощью иммуноонкологической терапии.

В поисковом анализе среди пациентов, оцениваемых на ТМБ, ниволумаб улучшил показатели ORR и PFS по сравнению с химиотерапией в подгруппе с высокой ТМБ (ORR ниволумаба, 46,8%; медиана PFS, 9,7 месяцев). Не было различия в OS между лечебными группами в подгруппе с высокой ТМБ, что отчасти можно объяснить высоким переходом (65%) на ниволумаб в группе химиотерапии. Тем не менее, подгруппа с высокой ТМБ имела исключительный показатель OS (медиана OS > 18 месяцев). Уровень ТМБ и экспрессия PD-L1 в опухоли, по-видимому, не связаны, и пациенты с высокой ТМБ и экспрессией PD-L1 $\geq 50\%$ могут иметь более высокую вероятность ответа на ниволумаб, чем те, у которых имеется только один или не имеется ни одного из этих факторов. В совокупности, результаты этого поискового анализа подтверждают гипотезу о том, что иммунотерапия обладает повышенной активностью у пациентов с высокой ТМБ¹⁴ и заслуживают будущего подтверждения.

В широкой PD-L1-экспрессирующей популяции в данном исследовании монотерапия ниволумабом сравнима с химиотерапией на основе платины и обеспечивает обнадеживающую основу для будущих комбинированных стратегий первой линии, которые могут улучшить отдаленные результаты и расширить популяцию пациентов, получающих благоприятный эффект от анти-PD-1 терапии. Комбинирование ниволумаба с ипилимумабом, который источник регуляторные Т-клетки, участвующие в подавлении иммунного ответа хозяина,^{19,20} может улучшить противоопухолевую активность.²¹ Результаты CheckMate 012 позволяют предположить, что эта комбинация может усилить клиническую активность в условиях первой линии для пациентов с NSCLC. У пациентов с $\geq 1\%$ -ной экспрессией PD-L1 показатель ORR был удвоен в когортах, получавших ниволумаб плюс ипилимумаб, по сравнению с когортой, получавшей монотерапию ниволумабом (57% против 28%), и показатель OS в течение одного года составил 87%.^{12,22,23} В исследовании фазы 3 (CheckMate 227; NCT02477826) оценивали эффективность и безопасность комбинации ниволумаб плюс ипилимумаб или химиотерапии у пациентов, не подвергавшихся ранее химиотерапии, со стадией IV/рецидивирующим NSCLC. Кроме того, в ряде продолжающихся исследований фазы 3 оценивают двойную блокаду иммунных контрольных точек или ингибиторов PD-1 плюс химиотерапия в NSCLC (например, NCT 02453282, NCT 02367781 и NCT 02578680).

В заключение, монотерапия ниволумабом не улучшила показатель PFS по сравнению с химиотерапией на основе платины в качестве терапии первой линии для стадии IV/рецидивирующего NSCLC в широкой популяции пациентов с $\geq 5\%$ -ной экспрессией PD-L1. Показатель OS при монотерапии ниволумабом был устойчивым и сопоставимым с двухкомпонентной химиотерапией на основе платины. Более того, это первое исследование фазы 3 с поисковой конечной точкой для оценки того, имела ли терапия ингибитором PD-1 повышенный эффект с улучшением результатов у пациентов с высокой ТМБ. Ниво-

лумаб имел улучшенный профиль безопасности по сравнению с химиотерапией, и никаких новых сигналов безопасности не наблюдалось.

Пример 2.

Исследование панели целевых генов (FOUNDATIONONE®) в сравнении с полноэкзомным секвенированием для оценки конкордантности с использованием образцов из фазы 3 исследования ниволумаба в качестве первой линии на стадии IV или рецидивирующего немелкоклеточного рака легкого TMB определяется как число соматических мутаций на мегабазу исследуемого генома опухоли. Было выдвинуто предположение, что можно рассчитать TMB путем секвенирования меньшего количества генов по сравнению с полноэкзомным секвенированием. Секвенирование с помощью FOUNDATIONONE® ранее было подтверждено с использованием 249 образцов злокачественных опухолей. См., например, Frampton GM et al. Nat Biotechnol. 2013;31:1023-1031.

Для оценки того, являются ли значения TMB эквивалентными и существует ли конкордантность между данными, полученными с помощью полноэкзомного секвенирования (WES) и теста FOUNDATIONONE®, данные по TMB от пациентов, включенных в исследование (из Примера 1), получали с использованием двух платформ секвенирования: WES и FOUNDATIONONE®. Способы

TMB оценивали в ДНК образцов опухолей, фиксированных формалином, залитых парафином (FFPE), используя 2 метода гибридизации-захвата/NGS. Для WES были проанализированы кодирующие области 21522 генов. Вкратце, экзомные данные опухоли и экзомные данные зародышевой линии (кровь) собирали и сравнивали для выявления соматических миссенс-мутаций (фиг. 21). Затем TMB определяли как общее количество миссенс-мутаций в экземе опухоли.

Для FOUNDATIONONE® была проанализирована панель целевых генов, состоящая из 315 связанных с раком генов. TMB определяли как число соматических мутаций на мегабазу исследуемого генома опухоли. Чувствительность и точность этого теста были ранее подтверждены с использованием 249 образцов рака, и этот способ применялся для оценки TMB во многих типах опухолей (см. Frampton et al., Nat. Biotechnol. 37:1023 (2013)), включая недавнее исследование 102292 опухолей (см. Chalmers et al., Genome Med. 9:34 (2017)). Фиг. 21 иллюстрирует дизайн эксперимента. Результаты

Показатели TMB, определенные путем полноэкзомного секвенирования (WES), наносили линейно на график против показателей TMB, определенных путем секвенирования FOUNDATIONONE® (F1). Как показано на фиг. 22, наблюдается высокая корреляция показателей TMB между двумя методами, и многие миссенс-мутации, идентифицированные с помощью полноэкзомного секвенирования, и многие соматические мутации, идентифицированные с помощью секвенирования FOUNDATIONONE®, находятся в пределах 0,95-доверительных границ, которые рассчитывали с использованием метода бутстреп (квантиль) (г-Спирмена = 0,9).

Для определения конкордантности TMB между FOUNDATIONONE® и полноэкзомным секвенированием, в качестве медианы использовали значение TMB, включающее 148 миссенс-мутаций (фиг. 22, вертикальная пунктирная линия). В той же точке данных было рассчитано, что имеется 7,64 соматических мутаций на мегабазу в 44 образцах с помощью секвенирования FOUNDATIONONE® (фиг. 22, горизонтальная пунктирная линия). Как показано в табл. 33, корреляция между обоими подходами к секвенированию является пересеченной (bridged). Таким образом, секвенирование FOUNDATIONONE® можно использовать для выявления мутационной нагрузки опухоли у пациентов со стадией IV или рецидивирующим немелкоклеточным раком легкого, которые были включены в исследование фазы 3 ниволумаба в первой линии терапии.

Таблица 33. Пересечение показателей TMB при секвенировании FOUNDATIONONE® и полноэкзомном секвенировании

	FoundationOne® <u>выше</u> <u>линии</u>	FoundationOne® <u>ниже</u> <u>линии</u>
Полноэкзомное секвенирование выше медианы	19	3
Полноэкзомное секвенирование ниже медианы	3	19

Калибровочные кривые использовали для проецирования данных TMB, полученных в результате полноэкзомного секвенирования, на данные, основанные на секвенировании FOUNDATIONONE®. В целом, наблюдалось 86% согласия (73-94; 95%-ный доверительный интервал Вильсона) между полноэкзомным секвенированием и секвенированием FOUNDATIONONE®. Что касается положительных корреляций, также наблюдалось 86%-ое согласие (67-95; 95%-ный доверительный интервал Вильсона) между полноэкзомным секвенированием и секвенированием FOUNDATIONONE®. И что касается отрицатель-

ных корреляций, также наблюдалось 86%-ое согласие (67-95; 95%-ный доверительный интервал Вильсона) между полноэкзомным секвенированием и секвенированием FOUNDATIONONE®. Эти данные демонстрируют, что пересечение (bridging) полноэкзомного секвенирования и секвенирования FOUNDATIONONE® облегчает перенос данных по биомаркерам, полученным в результате полноэкзомного секвенирования, на секвенирование FOUNDATIONONE®.

Это исследование в конечном счете подтверждает гипотезу о том, что данные по ТМВ, полученные на основе платформ тестирования, могут согласовываться. Поскольку ТМВ является новым биомаркером для точной иммуноонкологической терапии, возможность согласования данных между платформами тестирования поможет обеспечить альтернативные варианты тестирования.

Пример 3.

Пациенты с рецидивирующим мелкоклеточным раком легких (SCLC) имеют ограниченные варианты лечения и слабую выживаемость. Первоначальные результаты клинического исследования пациентов с SCLC показали длительные ответы и обнадеживающую выживаемость при лечении ниволумабом отдельно или в комбинации с ипилимумабом. Двадцать шесть процентов пациентов, получавших комбинацию ниволумаба и ипилимумаба, имели общую выживаемость в течение 2 лет по сравнению с 14% пациентов, получавших монотерапию ниволумабом. Эти данные подтверждают включение ниволумаба с ипилимумабом или без него в руководства NCCN по лечению SCLC.

Экспрессия PD-L1 в опухоли редко встречается в SCLC, и ответы наблюдаются независимо от статуса PD-L1. Улучшенные биомаркеры необходимы для иммунотерапии SCLC. Ранее было обнаружено, что субъекты, имеющие высокую ТМВ, имели более высокие показатели выживаемости без прогрессирования (PFS) после лечения монотерапией ниволумабом по сравнению с субъектами, имеющими низкую или среднюю ТМВ. SCLC почти исключительно обнаруживается у пациентов с историей курения и характеризуется высокой ТМВ. Связь между ТМВ и эффективностью наблюдалась при применении ниволумаба для лечения NSCLC и рака мочевого пузыря, а также ипилимумаба для лечения меланомы. Высокая ТМВ может быть ассоциирована с повышенным благоприятным эффектом от лечения ниволумабом ± ипилимумаб при SCLC. В настоящем исследовании изучается применение мутационной нагрузки опухоли (ТМВ) в качестве прогностического биомаркера для ниволумаба с ипилимумабом или без него при SCLC.

Дизайн исследования

Отбирали субъектов, у которых ранее был диагностирован SCLC, и которые ранее получали по меньшей мере один предшествующий режим лечения, содержащий платину (фиг. 23). Нерандомизированные и рандомизированные (3:2) пациенты получали либо (1) монотерапию ниволумабом, включающую 3 мг/кг ниволумаба, вводимого внутривенно каждые две недели до прогрессирования заболевания или появления неприемлемой токсичности; или (2) комбинированную терапию ниволумабом/ипилимумабом, включающую 1 мг/кг ниволумаба и 3 мг/кг ипилимумаба, вводимых внутривенно каждые три недели в течение четырех циклов, с последующей монотерапией ниволумабом в дозе 3 мг/кг, вводимым внутривенно каждые две недели до прогрессирования заболевания или появления неприемлемой токсичности.

Основная цель состояла в измерении частоты объективных ответов (ORR) в соответствии с RECIST v1.1. Вторичные цели включали наблюдение за безопасностью, общую выживаемость (OS), выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS) и продолжительность ответа (DOR). Предварительно заданные поисковые цели включали анализ биомаркеров и состояние здоровья с использованием опросника EQ-5D.

ТМВ определяли путем полноэкзомного секвенирования на Illumina HiSeq 2500 с использованием чтений 2 × 100-bp спаренных концов и рассчитывали как общее количество несинонимических миссенс-мутаций в опухоли. Для поисковых анализов пациентов разделяли на 3 подгруппы на основе тертиля ТМВ.

Включение в исследование

Всего было включено 245 субъектов (ITT) для монотерапии ниволумабом, из которых 133 субъекта подлежали оценке на ТМВ (табл. 34 и фиг. 24). В общей сложности 156 субъектов было включено (ITT) для комбинированной терапии ниволумабом/ипилимумабом, из которых 78 субъектов подлежали оценке на ТМВ (табл. 34 и фиг. 24).

Таблица 34. Исходные характеристики

	Ниволумаб		Ниволумаб + Ипилимумаб	
	ITT (n = 245)	поддающиеся оценке на ТМВ (n = 133)	ITT (n = 156)	поддающиеся оценке на ТМВ (n = 78)
Возраст, медиана (диапазон), лет	63 (29–83)	63 (29–83)	65 (37–91)	65 (37–80)
Мужчины, n (%)	60	59	61	67
Статус курения, %				
Настоящие/бывшие курильщики	94	95	94	94
Никогда не курили	5	5	5	6
ECOG PS, %				
0	30	32	31	30
1	70	68	68	69
Экспрессия PD-L1 в опухоли, %				
≥1%	10	13	12	10
<1%	61	67	58	65
Неизвестно	29	20	30	24
Исследуемая когорта, %				
Нерандомизированные	40	38	39	32
Рандомизированные	60	62	61	68

Результаты

Выживаемость без прогрессирования (PFS; фиг. 25A и 25C) и общая выживаемость (OS; фиг. 25B и 25D) были сопоставимыми между ИТТ-пациентами и подгруппой, оцениваемой на ТМВ, для монотерапии ниволумабом (фиг. 25A и 25B) и комбинированной терапии ниволумабом/ипилимумабом (фиг. 25C и 25D).

Показатель ORR у ИТТ-пациентов и оцениваемых на ТМВ пациентов составил 11,4 и 11,3% соответственно, при монотерапии ниволумабом, и 21,8 и 28,2% при комбинированной терапии ниволумабом/ипилимумабом. Распределение ТМВ для пациентов, получающих монотерапию ниволумабом или комбинированную терапию ниволумабом/ипилимумабом, показано на фиг. 26A. При объединении (фиг. 26B) распределение общих миссенс-мутаций в когорте SCLC было сравнимо с распределением общих миссенс-мутаций в недавнем исследовании немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) (фиг. 26C).

Показатель общей частоты ответов (ORR) был выше у субъектов, оцениваемых на ТМВ, которые получали комбинированную терапию ниволумабом/ипилимумабом (28,2%), чем у субъектов, которые получали монотерапию ниволумабом (11,3%) (фиг. 27). При стратификации по ТМВ наибольший эффект наблюдался у субъектов с высокой ТМВ. Субъекты с низкой ТМВ, получавшие монотерапию ниволумабом или монотерапию ипилимумабом, показали ORR около 4,8 и 22,2% соответственно. Субъекты со средней ТМВ, получавшие монотерапию ниволумабом или монотерапию ипилимумабом, показали ORR около 6,8 и 16,0% соответственно. Субъекты с высокой ТМВ, получавшие монотерапию ниволумабом или монотерапию ипилимумабом, показали ТМВ около 21,3 и 46,2% соответственно.

В целом, субъекты, испытывающие лучший ответ, имели более высокое число миссенс-мутаций опухоли. Субъекты, которые получали монотерапию ниволумабом, испытывая полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), имели в среднем 325 миссенс-мутаций, те, которые испытывали стабильное заболевание, имели в среднем 211,5 миссенс-мутаций, и те, которые испытывали стабильное заболевание, имели в среднем 185,5 миссенс-мутаций (фиг. 28A). Субъекты, которые получали комбинированную терапию ниволумабом/ипилимумабом, испытывая полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), имели в среднем 266 мутаций, те, которые испытывали стабильное заболевание, имели в среднем 202 мутации, и те, которые испытывали стабильное заболевание, имели в среднем 156 миссенс-мутаций (фиг. 28B).

Кроме того, у субъектов с высокой ТМВ наблюдался повышенный показатель PFS после лечения монотерапией ниволумабом (фиг. 29A) или комбинированной терапией ниволумабом/ипилимумабом (фиг. 29B) по сравнению с субъектами, имеющими низкую или среднюю ТМВ. Для монотерапии ниволумабом средний показатель PFS составил около 1,3% для субъектов с низкой и средней ТМВ и около 1,4% для субъектов с высокой ТМВ, и показатель PFS через 1 год составил 21,2% для субъектов с высокой ТМВ по сравнению с только 3,15 для средней ТМВ (фигура 29A). Для комбинированной терапии ниволумабом/ипилимумабом средний показатель PFS составил около 1,5% для субъектов с низкой ТМВ, 1,3% для субъектов со средней ТМВ и около 7,8% для субъектов с высокой ТМВ, и показатель PFS через 1 год составил около 30% для субъектов с высокой ТМВ по сравнению с около 8,0 и 6,2% для субъектов со средней и низкой ТМВ соответственно (фиг. 29B).

Аналогично, субъекты с высокой ТМВ показали увеличенный показатель OS после лечения монотерапией ниволумабом (фиг. 30A) или комбинированной терапией ниволумабом/ипилимумабом (фиг. 30B) по сравнению с субъектами, имеющими низкую или среднюю ТМВ. Для монотерапии ниволумабом медиана OS составила около 3,1% для субъектов с низкой ТМВ, около 3,9% для субъектов со средней

ТМВ и около 5,4% для субъектов с высокой ТМВ, и показатель OS через 1 год составил 35,2% для субъектов с высокой ТМВ по сравнению с около 26,0 % для субъектов со средней ТМВ и 22,1% для субъектов с низкой ТМВ (фиг. 30А). Для комбинированной терапии ниволумабом/ипилимумабом медиана OS составила около 3,4% для субъектов с низкой ТМВ, 3,6% для субъектов со средней ТМВ и около 22% для субъектов с высокой ТМВ, и показатель OS через 1 год составил около 62,4% для субъектов с высокой ТМВ по сравнению с около 19,6% и 23,4% для субъектов со средней и низкой ТМВ, соответственно (фиг. 30В).

Пример 4.

Ниволумаб, запрограммированный ингибитор программируемой смерти (PD)-1, продемонстрировал эффективность в несравнительном исследовании фазы II у пациентов (pts) с метастатическим или хирургически неоперабельной уротелиальной карциномой (UC) (CheckMate 275; Sharma et al. 2017). В настоящем анализе изучают потенциальную связь между мутационной нагрузкой опухоли до лечения (ТМВ) и ответом на ниволумаб.

Способы

ДНК опухоли из предварительно обработанной архивной опухолевой ткани и соответствующих образцов цельной крови профилировали путем полноэкзомного секвенирования. ТМВ определяли как общее количество соматических миссенс-мутаций на опухоль и оценивали как непрерывную переменную и по тертилям (количество миссенс-мутаций: высокое 167, среднее 85-166, низкое <85). Использовали модели Кокса для изучения связи между ТМВ и выживаемостью без прогрессирования (PFS) и общей выживаемостью (OS); и логистическую регрессию для частоты объективного ответа (ORR). Экспрессию PD-лиганда 1 (PD-L1) в опухоли оценивали с помощью иммуногистохимического анализа PD-L1 Dako 28-8 и классифицировали как <1%.

Результаты

139 (51%) из 270 пациентов имели поддающуюся оценке ТМВ. Исходные характеристики, ORR, PFS и OS были сходными между всеми подвергнутыми лечению пациентами и подгруппой ТМВ. Показатели ORR, PFS и OS у всех пациентов и подгрупп ТМВ/PD-L1 показаны в табл. 35. ТМВ показала статистически значимую положительную связь с ORR ($P \frac{1}{4} 0,002$) и PFS ($P \frac{1}{4} 0,005$), и сильную связь с OS ($P \frac{1}{4} 0,067$), даже при корректировке на исходную экспрессию PD-L1 в опухоли, статус метастазирования в печени и сывороточный гемоглобин. Высокая ТМВ оказывала наибольшее влияние на выживаемость у пациентов с <1% экспрессией PD-L1 (табл. 35).

Эти поисковые обнаружения дают основание предположить, что ТМВ может усилить ответ на ниволумаб и может обеспечить дополнительную прогностическую/предиктивную информацию помимо PD-L1. Необходимы дальнейшие анализы в рандомизированных исследованиях для определения прогностической/предиктивной ценности ТМВ в контексте других биомаркеров у пациентов с UC, получавших иммунотерапию.

Таблица 35. Показатели ORR, PFS и OS: все пациенты и подгруппы ТМВ/PD-L1

	Все пациенты N $\frac{1}{4}$ 270		Подгруппа ТМВ N $\frac{1}{4}$ 139		Высокая ТМВ N $\frac{1}{4}$ 47		Средняя ТМВ N $\frac{1}{4}$ 46		Низкая ТМВ N $\frac{1}{4}$ 46	
	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1
ORR, %	20.0		20.1		31.9		17.4		10.9	
PFS, месяц медиана	2.00		2.00		3.02		1.87		1.91	
(95% CI)	(1.87– 2.63)		(1.87– 3.02)		(1.87– NR)		(1.68– 3.65)		(1.84– 3.15)	
OS, месяцы медиана	8.57		7.23		11.63		9.66		5.72	
(95% CI)	(6.05– 11.27)		(5.72– 11.63)		(5.82– NR)		(4.76– NR)		(4.21– 11.30)	
	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1
	<1%	1%	<1%	1%	<1%	1%	<1%	1%	<1%	1%
	N $\frac{1}{4}$ 146	N $\frac{1}{4}$ 124	N $\frac{1}{4}$ 69	N $\frac{1}{4}$ 70	N $\frac{1}{4}$ 23	N $\frac{1}{4}$ 24	N $\frac{1}{4}$ 21	N $\frac{1}{4}$ 25	N $\frac{1}{4}$ 25	N $\frac{1}{4}$ 23.8
ORR, %	15.8	25.0	17.4	22.9	30.4	33.3	23.8	12.0	0	23.8
PFS, месяц медиана	1.87	3.53	1.87	2.30	3.02	3.52	1.77	1.94	1.77	3.12
(95% CI)	(1.77– 2.04)	(1.94– 3.71)	(1.71– 3.02)	(1.87– 3.71)	(1.81– NR)	(1.87– NR)	(1.54– 5.78)	(1.68– 3.71)	(1.68– 2.10)	(1.87– 7.23)
OS, месяцы медиана	5.95	11.63	5.68	10.28	NR	10.60	4.53	11.30	4.96	8.57
(95% CI)	(4.37– 8.08)	(9.10– NR)	(4.40– NR)	(6.05– NR)	(4.70– NR)	(5.82– NR)	(2.23– NR)	(5.85– NR)	(2.92– NR)	(4.21– NR)

Пример 5. Ниволумаб плюс ипилимуаб при высокой мутационной нагрузке опухоли в немелкоклеточном раке легкого

Комбинация ниволумаб+ипилимуаб продемонстрировала многообещающую эффективность в исследовании фазы 1 NSCLC, и мутационная нагрузка опухоли (ТМВ) стала потенциальным биомаркером благоприятного эффекта. Это исследование представляет собой открытое, состоящее из многих частей исследование фазы 3 ниволумаба и комбинаций на основе ниволумаба первой линии в отобранных по

биомаркерам популяциях NSCLC. Представлены результаты из части 1 по со-первичной конечной точке - выживаемости без прогрессирования (PFS) при использовании комбинации ниволумаб+ипилиумаб по сравнению с химиотерапией у пациентов с высокой ТМБ (≥ 10 мутаций/Мб). Исследование продолжается в отношении со-первичной конечной точки - общей выживаемости у PD-L1-отобранных пациентов.

Пациенты имели рецидивирующий NSCLC IV стадии, не подвергавшийся ранее химиотерапии. Пациентов с $\geq 1\%$ -ной экспрессией PD-L1 в опухоли рандомизировали в соотношении 1:1:1 на получение комбинации ниволумаб+ипилиумаб, ниволумаба или химиотерапии; пациентов с $< 1\%$ -ной экспрессией PD-L1 в опухоли рандомизировали в соотношении 1:1:1 на получение комбинации ниволумаб+ипилиумаб, комбинации ниволумаб+химиотерапия или химиотерапии. ТМБ определяли с использованием FOUNDATIONONE® CDX™.

Выживаемость без прогрессирования (PFS) у пациентов с высокой ТМБ (≥ 10 мутаций/Мб) была значительно продолжительней при применении комбинации ниволумаб+ипилиумаб по сравнению с химиотерапией (HR, 0,58; 97,5% CI, 0,41-0,81; P=0,0002); показатели PFS в течение 1 года составляли 43% и 13%, а медиана PFS (95% CI) составила 7,2 (5,5-13,2) и 5,5 (4,4-5,8) месяцев, соответственно. Показатели частоты объективных ответов составили 45,3 и 26,9% соответственно. Эффект комбинации ниволумаб+ипилиумаб по сравнению с химиотерапией широко согласовывался в подгруппах, включая группы с $\geq 1\%$ и $< 1\%$ экспрессией PD-L1. Неблагоприятные события степени 3-4, связанные с лечением, составили 31% и 36%, соответственно.

Показатель PFS значительно улучшился при применении комбинации ниволумаб+ипилиумаб в первой линии терапии по сравнению с химиотерапией при NSCLC с ТМБ ≥ 10 мутаций/Мб, независимо от экспрессии PD-L1. Результаты подтверждают эффект композиции ниволумаб+ипилиумаб при NSCLC и роль ТМБ в качестве биомаркера для отбора пациентов.

Отбор пациентов

Свежие или архивные образцы опухоли, полученные при биопсии, полученные за 6 месяцев до включения в исследование (и без получения пациентом любой интервенционной системной противораковой терапии), тестировали на PD-L1 в централизованной лабораторией с использованием анти-PD-L1 антитела (антитело 28-8). Hanna, N., et al. J Oncol Pract 13:832-7 (2017).

Взрослые пациенты с PD-L1-гистологически подтвержденным плоскоклеточным или неплоскоклеточным стадия IV/рецидивирующим NSCLC и показателем общего состояния по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) (Oken M.M., et al. Am J Clin Oncol 5:649-55 (1982)) 0 или 1 у тех, кто ранее не получал системную противораковую терапию в качестве первичной терапии распространенного или метастатического заболевания, имели право на участие в исследовании. См. фиг. 31. Все пациенты прошли визуализацию для выявления метастазов в мозг. Исключались пациенты с известными мутациями EGFR или транслокациями ALK, чувствительные к таргетной терапии, аутоиммунным заболеванием или не подвергнутыми лечению метастазами в центральной нервной системе. Пациенты с метастазами в центральной нервной системе подходили для участия в исследовании, если они получали адекватное лечение и неврологически возвращались к исходному уровню за ≥ 2 недели до рандомизации.

В качестве дополнительных критериев включения и исключения, предшествующая адьювантная или неoadьювантная химиотерапия, или предшествующая итоговая химиолучевая терапия для местнораспространенного заболевания разрешалась за 6 месяцев до включения в исследование. Предшествующая паллиативная лучевая терапия поражений нецентральной нервной системы должна быть завершена за ≥ 2 недели до рандомизации. Пациенты должны отказаться от глюкокортикоидов или принимать стабильные или уменьшающиеся дозы преднизона (или эквивалента) ≥ 10 мг в день в течение ≥ 2 недель до рандомизации.

Дизайн исследования и лечение

Настоящее исследование представляло собой исследование фазы 3, состоящее из нескольких частей, предназначенное для оценки различных схем на основе ниволумаба по сравнению с химиотерапией в различных популяциях пациентов. В течение 16 месяцев пациенты с экспрессией PD-L1 в опухоли $\geq 1\%$ и $< 1\%$ были одновременно включены в исследование в одинаковых центрах (фиг. 31). Пациенты с экспрессией PD-L1 $\geq 1\%$ были рандомизированы (1:1:1), стратифицированы по гистологии опухоли (плоскоклеточный против неплоскоклеточного NSCLC) на получение (i) ниволумаба 3 мг/кг каждые 2 недели плюс ипилиумаб 1 мг/кг каждые 6 недель, (ii) двухкомпонентной химиотерапии на основе платины исходя из гистологии каждые 3 недели до 4 циклов, или (iii) ниволумаба 240 мг каждые 2 недели. Пациенты с $< 1\%$ экспрессией PD-L1 были рандомизированы (1:1:1), стратифицированы по гистологии опухоли на получение (i) ниволумаба 3 мг/кг каждые 2 недели плюс ипилиумаб 1 мг/кг каждые 6 недель, (ii) двухкомпонентной химиотерапии на основе платины исходя из гистологии каждые 3 недели до 4 циклов, или (iii) ниволумаба 360 мг плюс двухкомпонентной химиотерапии на основе платины исходя из гистологии каждые 3 недели на срок до 4 циклов. Пациенты с неплоскоклеточным NSCLC со стабильным заболеванием или ответом после 4 циклов химиотерапии или химиотерапии с ниволумабом могли продолжать поддерживающую терапию пеметрекседом или пеметрекседом плюс ниволумаб. Все виды лечения продолжали до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или завершения в соответст-

вии с протоколом (до 2 лет для иммунотерапии). Пересечение между лечебными группами в рамках исследования не разрешалось.

Из 2877 пациентов, включенных в 1 часть исследования, 1739 прошли рандомизацию. Из 1138 пациентов, которые не были рандомизированы, 909 пациентов более не отвечали критериям исследования (общие причины включали выявленные мутации EGFR/ALK, снижение PS ECOG, не подвергнутые лечению метастазы в мозг и не поддающуюся оценке экспрессию PD-L1), 88 пациентов отозвали согласие, 40 пациентов умерли, 33 пациента имели неблагоприятные события (не связанные с исследуемым лекарственным средством), с 6 пациентами был утерян контакт для последующего наблюдения и 62 пациента были исключены по другим причинам.

Как показано в табл. 36 и 37, исходные характеристики у всех рандомизированных и оцениваемых на ТМВ пациентов были сходными и сбалансированными между лечебными группами.

Таблица 36. Исходные характеристики всех рандомизированных пациентов

	Все рандомизированные пациенты			
	Ниволумаб + Ипилимумаб (n = 583)	Ниволумаб (n = 396)	Химио- терапия (n = 583)	Всего (N = 1739)
Медиана возраста, лет	64	64	64	64
Женщины, %	33	31	34	32
ECOG PS, %				
0	35	36	33	34
1	65	64	66	65
≥2	>1	0	1	<1
Не сообщалось	0	<1	<1	<1
Статус курения, %				
Настоящие/ бывшие курильщики	85	86	86	85
Никогда не курили	14	13	13	13
Неизвестно	1	1	1	1
Гистология, %				
Плоскоклеточный	28	30	28	28
Неплоскоклеточ- ный	72	70	72	72
Экспрессия PD- L1, %				
<1%	32	0	32	32
≥ 1%	68	100	68	68

ECOG PS = общее состояние по пациента по шкале, разработанной Восточной онкологической группой;

PD-L1 = лиганд программируемой смерти-1

Таблица 37. Исходные характеристики всех пациентов, поддающихся оценке на ТМВ

	Поддающиеся оценке на ТМВ пациенты			
	Ниволумаб + Ипилимумаб (n = 330)	Ниволумаб (n = 228)	Химио- терапия (n = 349)	Всего (N = 1004)
Медиана возраста, лет	64	64	64	64
Женщины, %	34	31	36	33

ECOG PS, %				
0	33	32	34	33
1	67	67	65	67
≥2	<1	0	1	<1
Нет сообщений	0	<1	<1	<1
Статус курения, %				
Настоящие/ бывшие курильщики	86	86	87	87
Никогда не курили	12	12	11	12
Неизвестно	2	1	1	1
Гистология, %				
Плоскоклеточный	28	29	32	29
Неплоскоклеточный	72	71	68	71
Экспрессия PD-L1, %				
<1%	27	0	31	29
≥ 1%	73	100	69	71

ECOG PS = общее состояние по пациента по шкале, разработанной Восточной онкологической группой

Анализ мутационной нагрузки опухоли

TMB оценивали в архивных или свежих, фиксированных формалином, залитых парафином образцах опухолей с использованием утвержденного анализа FOUNDATIONONE® CDX™, в котором используется секвенирование следующего поколения для детекции замен, вставок и делеций (инделей), а также изменений числа копий в 324 генах, и выбора перестроек генов. Ettinger, D.S., et al. J Natl Compr Canc Netw, 15:504-35 (2017). Независимые отчеты продемонстрировали соответствие между TMB, оцененной в результате полноэкзомного секвенирования (WES), и TMB, оцененной в результате таргетного секвенирования следующего поколения (NGS). См. Szustakowski J., et al. Evaluation of tumor mutation burden as a biomarker for immune checkpoint inhibitor efficacy: A calibration study of whole exome sequencing with FoundationOne®. Presented at the American Association for Cancer Research 2018 Annual Meeting; 2018; Chicago, Illinois; Zehir A, et al. Nat Med 2017; 23:703-713; Rizvi H., et al., J Clin Oncol 2018;36:633-41. TMB рассчитывали в соответствии с ранее определенными методами. Reck, M., et al., N Engl J Med, 375:1823-33 (2016). Вкратце, TMB определяли как количество соматических, кодирующих, замен оснований и коротких инделей на мегабазу исследованного генома. Все замены оснований и индели в кодирующей области целевых генов, включая синонимические мутации, фильтровали по событиям онкогенного фактора в соответствии с COSMIC и статусу зародышевой линии в соответствии с базами данных dbSNP и ExAC, в дополнение к частной базе данных редких событий зародышевой линии, собранной в клиническую когорту Foundation Medicine. Дополнительную фильтрацию выполняли на основе компьютерной оценки статуса зародышевой линии с использованием инструмента SGZ (соматическая-зародышевая линия-зиготность). Aguiar, P.N., et al., ESMO Open, 2:e000200 (2017).

Как показано в табл. 38, из всех рандомизированных пациентов (N = 1739) 1649 (95%) имели образцы опухолей для оценки TMB, и 1004 (58%) имели подтвержденные результаты TMB для анализа эффективности на основе TMB.

Таблица 38. Размер выборки при определении TMB

Пациенты, n (%)	
Рандомизированные ^a	1739 (100)
Доступные образцы	1649 (95)
Образцы, поддающиеся оценке на TMB ^b	1004 (58)

^a Рандомизированные пациенты включают пациентов из всех лечебных групп в Части 1 (ниволумаб + ипилимумаб, ниволумаб, химиотерапия и ниволумаб + химиотерапия)

^b Для всех образцов была проведена предварительная проверка контроля качества с целью выявления неточностей, включающих, помимо прочего, неправильные запросы, получение недостаточного количества образцов и дубликатов образцов. В анализе FOUNDATIONONE® CDX™ применяются комплексные критерии контроля качества, включая следующие важные характеристики: чистота опухоли, размер образца ДНК, размер образца ткани, размер конструкции библиотеки и выход гибридного захвата

Из всех пациентов, поддающихся оценке по ТМВ, во всех лечебных группах 444 (44%) имели ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб, включая 139 пациентов, рандомизированных на получение ниволумаба плюс ипилимумаб, и 160 пациентов, рандомизированных на проведение химиотерапии. Как показано в табл. 39, исходные характеристики между двумя лечебными группами были хорошо сбалансированы, включая распределение экспрессии PD-L1. В популяции, оцененной на ТМВ, корреляции между ТМВ и экспрессией PD-L1 не наблюдалось. Фиг. 36А и 36В.

Таблица 39. Исходные характеристики пациентов с ТМВ ≥ 10 мутаций/ Мб

Характеристика	Ниволумаб плюс ипилимумаб (n = 139)	Химиотерапия (n = 160)
Возраст, лет		
Медиана	64	64
Диапазон	41–87	29–80
Возрастная категория, n (%)		
<65 лет	73 (53)	83 (52)
≥ 65 - <75 лет	53 (38)	63 (39)
≥ 75 лет	13 (9)	14 (9)
Пол, n (%)		
Мужчины	98 (71)	106 (66)
Женщины	41 (29)	54 (34)
Регион, n (%)		
Северная Америка	14 (10)	16 (10)
Европа	77 (55)	87 (54)
Азия	21 (15)	32 (20)
Остальной мир	27 (19)	25 (16)
ECOG общее состояние по пациента по шкале, разработанной Восточной онкологической группой, n (%)		
0	56 (40)	49 (31)
1	82 (59)	110 (69)
≥ 2	1 (1)	1 (1)
Статус курения, n (%)		
Настоящие/Бывшие курильщики	130 (94)	146 (91)
Никогда не курили	7 (5)	11 (7)
Неизвестно	2 (1)	3 (2)
Гистология опухоли, n (%)		
Плоскоклеточная карцинома	45 (32)	55 (34)
Неплоскоклеточная карцинома	94 (68)	105 (66)
Уровень экспрессии PD-L1, n (%)		
<1%	38 (27)	48 (30)
$\geq 1\%$	101 (73)	112 (70)

При минимальном периоде последующего наблюдения, составляющем 11,2 месяца, 17,7 и 5,6% пациентов, получавших ниволумаб плюс ипилимумаб и химиотерапию, соответственно, оставались на лечении. См. табл. 40.

Таблица 40. Краткое описание завершения лечения

	Все подвергнутые лечению пациенты		TMB ≥ 10 мутаций/Мб	
	Ниволумаб + Ипилимумаб n = 576	Химио- терапия n = 570	Ниволумаб + Ипилимумаб n = 135	Химио- терапия n = 159
Пациенты, продолжающие период лечения, n (%)	102 (17.7)	32 (5.6)	33 (24.2)	5 (3.1)
Пациенты, не продолжающие период лечения, n (%)	474 (82.3)	538 (94.4)	102 (75.6)	154 (96.9)
Причины прерывания периода лечения, n (%)				
Прогрессирование заболевания				
Токсичность исследуемого препарата	285 (49.5)	279 (48.9)	51 (37.8)	75 (47.2)
Завершили требуемое лечение	108 (18.8)	51 (8.9)	35 (25.9)	14 (8.8)
Смерть	2 (0.3)	126 (22.1)	0	42 (26.4)
Неблагоприятное событие, не связанное с исследуемым препаратом	6 (1.0)	2 (0.4)	1 (0.7)	0
Просьба пациента о прекращении	39 (6.8)	35 (6.1)	7 (5.2)	9 (5.7)
Отзыв пациентом согласия	9 (1.6)	19 (3.3)	3 (2.2)	8 (5.0)
Утрата контактов для последующего наблюдения	8 (1.4)	6 (1.1)	1 (0.7)	1 (0.6)
Максимальный клинический эффект	1 (0.2)	1 (0.2)	0	0
Не соблюдение режима лечения	3 (0.5)	0	1 (0.7)	0
Пациент, не отвечающий более критериям исследования	1 (0.2)	2 (0.4)	0	1 (0.6)
Другие	1 (0.2)	1 (0.2)	0	0
Не сообщается	11 (1.9)	10 (1.8)	3 (2.2)	2 (1.3)
	0	6 (1.1)	0	2 (1.3)

Из пациентов, распределенных на получение химиотерапии, 28,1% получали последующую иммунотерапию. См. табл. 41.

Таблица 41. Последующие системные терапии у пациентов с TMB ≥ 10 мутаций/Мб^a

Пациенты, n (%)	Ниволумаб + Ипилимумаб n = 139	Химиотерапия n = 160
Любая последующая системная терапия	23 (16.5)	69 (43.1)
Иммунотерапия	3 (2.2)	45 (28.1)
Анти-PD-1	3 (2.2)	42 (26.3)
Ниволумаб	3 (2.2)	36 (22.5)
Пембролизумаб	0	6 (3.8)
Анти-PD-L1 (атезолизумаб)	0	1 (0.6)
Анти-CTLA-4 (ипилимуаб)	0	5 (3.1) ^b
Иная иммунотерапия	0	2 (1.3)
Таргетная терапия	2 (1.4)	3 (1.9)
Химиотерапия	22 (15.8)	33 (20.6)

^a На момент блокировки базы данных 24% пациентов, получавших ниволумаб + ипилимумаб, и 3% пациентов, получавших химиотерапию, все еще находились на лечении.

^b Все 5 пациентов получали ипилимумаб в сочетании с ниволумабом

Средняя продолжительность терапии составила 4,2 месяца (диапазон от 0,03 до 24,0+) при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб и 2,6 месяцев (диапазон от 0,03 до 22,1+) при применении химиотерапии. Медиана количества доз ниволумаба (каждые 2 недели) и ипилимумаба (каждые 6 недель), полученных в качестве комбинированной терапии, составила 9 (диапазон от 1 до 53) и 3 (диапазон от 1 до 18) соответственно.

Среди пациентов с высокой TMB (≥ 10 мутаций/Мб) 24,2% пациентов, получавшие лечение комби-

нацией ниволумаб плюс ипилимумаб, и 3,1% пациентов, получавших химиотерапию, продолжали лечение на момент блокировки базы данных; наиболее частой причиной прекращения лечения было прогрессирование заболевания (37,8% и 47,2%, соответственно), токсичность исследуемого препарата (25,9% и 8,8%, соответственно) и завершение необходимого лечения среди пациентов в группе химиотерапии (26,4% против 0% для пациентов, получавших лечение комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб).

Конечные точки и оценки

Часть 1 этого исследования имела две со-первичные конечные точки. Одной из со-первичных конечных точек была выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS), которую оценивали с помощью слепого независимого центрального обзора с применением ниволумаба и ипилимумаба в сравнении с химиотерапией в популяции пациентов, отобранных по ТМБ. На основании предыдущих обнаружений (Ramalingam SS, et al. Tumor mutation burden (TMB) as a biomarker for clinical benefit from dual immune checkpoint blockade with nivolumab (nivo) + ipilimumab (ipi) in first-line (1L) non-small cell lung cancer (NSCLC): identification of TMB cutoff from CheckMate 568. Presented at the American Association for Cancer Research 2018 Annual Meeting; 2018; Chicago, Illinois.), предварительно заданное пороговое значение ТМБ, равное ≥ 10 мутаций/Мб было выбрано для предварительно запланированной сопервичной конечной точки. Второй со-первичной конечной точкой являлась общая выживаемость (OS) при лечении комбинацией ниволумаба плюс ипилимумаб по сравнению с химиотерапией в популяции PD-L1-отобранных пациентов.

Как показано в табл. 42, вторичные конечные точки в отобранных по ТМБ популяциях пациентов включали PFS при лечении ниволумабом против химиотерапии у пациентов с ТМБ ≥ 13 мутаций/Мб и $\geq 1\%$ экспрессии PD-L1 и OS при лечении комбинацией ниволумаба плюс ипилимумаб против двухкомпонентной химиотерапии на основе платины у пациентов с ТМБ ≥ 10 /Мб.

Таблица 42. Проверка иерархической гипотезы у пациентов, отобранных по ТМБ

Иерархия	Конечная точка	Популяция	Сравнение
1	Первичная конечная точка: PFS <i>Alpha</i> = 0.25	ТМБ ≥ 10 мутаций/Мб	Ниволумаб + Ипилимумаб против химиотерапии
2	Вторичная конечная точка: PFS	ТМБ ≥ 13 мутаций/Мб и $\geq 1\%$ -ная экспрессия PD-L1 в опухоли	Ниволумаб против химиотерапии
3	Вторичная конечная точка: OS	ТМБ ≥ 10 мутаций/Мб	Ниволумаб + Ипилимумаб против химиотерапии
4	Вторичная конечная точка: OS	ТМБ ≥ 13 мутаций/Мб и $\geq 1\%$ -ная экспрессия PD-L1 в опухоли	Ниволумаб против химиотерапии
Поисковые конечные точки: ORR, PFS для всех групп, безопасность			

PFS = выживаемость без прогрессирования заболевания;

ORR = частота объективных ответов;

OS = общая выживаемость

Пороговый показатель ТМБ ≥ 13 мутаций/Мб для вторичной конечной точки -выживаемости без прогрессирования (PFS) при лечении ниволумабом в сравнении с химиотерапией был основан на анализах из предыдущих исследований, включая связующее исследование, преобразующее данные полноэкзомного секвенирования в данные FOUNDATIONONE® CDX™. См. Carbone et al. N Engl J Med 2017;376:2415-26; Szustakowski et al.. Оценка мутационной нагрузки опухоли в качестве биомаркера эффективности ингибитора иммунной контрольной точки: калибровочное исследование секвенирования всего экзона с помощью FoundationOne®. В: American Association for Cancer Research 2018 Annual Meeting. Chicago, Illinois; 2018. Частота объективных ответов (ORR), продолжительность ответа и безопасность являлись поисковыми конечными точками исследования. Неблагоприятные события классифицировали в соответствии с Общими критериями терминологии для неблагоприятных событий Национального института рака, версия 4.0. PD-L1 определяли, как описано ранее. См. маркировку: PD-L1 IHC 28-8 pharmDx. Dako North America, 2016. (Accessed October 20, 2016, at accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf15/P150027c.pdf.)

ТМБ, определяемая как количество соматических кодирующих замен оснований и коротких вставок и делеций (инделей) на мегабазу исследуемого генома, определяли с использованием анализа FOUNDATIONONE® CDX™. См., например, FOUNDATIONONE® CDX™. Foundation Medicine, 2018. (Доступно 8 февраля 2018 г. по адресу foundationmedicine.com/genomic-testing/foundation-one-cdx.); Chalmers et al., Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. Genome Med 2017;9:34; и Sun JX, He Y, Sanford E, et al. Количество мутаций после применения различ-

ных фильтров разделяли на подсчитанную область (0,8 Mb), чтобы получить мутации/Mb.

Для со-первичной конечной точки, представляющей выживаемость без прогрессирования (PFS) при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб в сравнении с химиотерапией у пациентов с TMB ≥ 10 мутаций/Mb, было подсчитано, что размер выборки, составляющий по меньшей мере 265 пациентов, с приблизительно 221 случаем смерти или прогрессирования заболевания обеспечит 80% мощности для определения отношения рисков, равного 0,66, в пользу комбинации ниволумаб плюс ипилимумаб по сравнению с химиотерапией, с двусторонней ошибкой 1 рода, равной 0,025, с помощью двустороннего лог-рангового критерия. Отношения рисков PFS с соответствующими двусторонними доверительными интервалами оценивали с использованием нестратифицированной модели пропорциональных рисков Кокса с лечебной группой в качестве единственной ковариаты. Многофакторный анализ данных предусматривали у пациентов с TMB ≥ 10 мутаций/Mb для оценки влияния известных прогностических исходных факторов на PFS. Оценки отношений рисков с соответствующим двусторонним 97,5% CI рассчитывали для первичных и вторичных сравнений, указанных в тестировании иерархической гипотезы у пациентов, отобранных по TMB (см. табл. 42 выше); для всех других оценок рассчитывали двусторонний 95% CI, который не должен использоваться для определения различий в эффектах лечения. Кривые выживаемости оценивали с использованием методологии Каплана-Мейера.

В заключение, данное исследование достигло своей со-первичной конечной точки, и результаты могут обеспечить создание двух новых стандартов лечения распространенного NSCLC. Во-первых, все пациенты с NSCLC, не получавшие ранее лечения, должны пройти тестирование на TMB, поскольку результаты подтверждают роль TMB в качестве важного и независимого биомаркера. Во-вторых, в этом исследовании вводят комбинацию ниволумаб плюс ипилимумаб в качестве нового варианта лечения первой линии для пациентов с высокой TMB ≥ 10 мутаций/Mb. Эти результаты обеспечивают более персонализированный подход к лечению рака легких, предлагая эффективную иммунотерапию первой линии в комбинации с щадящей химиотерапией для пациентов, которые с наибольшей вероятностью получат продолжительный благоприятный эффект, при этом сохраняя эффективные варианты лечения второй линии. Использование TMB в качестве прогностического биомаркера для пациентов с NSCLC обеспечивает пример точной медицины, адаптации лечение к тем пациентам, которые с наибольшей вероятностью получат пользу от комбинированной иммунотерапии.

Все рандомизированные пациенты

У всех рандомизированных пациентов (независимо от экспрессии PD-L1) показатель PFS улучшился при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб по сравнению с химиотерапией (отношение рисков [HR], 0,83; 95%, от 0,72 до 0,96), при этом показатели PFS в течение 1 года составили 31% против 17%. Медиана PFS составила 4,9 месяцев (95% CI от 4,1 до 5,6) при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб и 5,5 месяцев (95% CI от 4,6 до 5,6) при проведении химиотерапии. Аналогичный благоприятный эффект при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб по сравнению с химиотерапией наблюдался среди пациентов, поддающихся оценке на TMB (FIR, 0,82; 95% CI, от 0,68 до 0,99), с показателями PFS в течение 1 года, составляющими 32% против 15%; медиана PFS составила 4,9 месяцев (95% CI от 3,7 до 5,7) и 5,5 месяцев (95% CI от 4,6 до 5,6), соответственно. См. фиг. 34A и 34B.

Пациенты с высокой TMB (≥ 10 мутаций/Mb) в сравнении с низкой TMB

Анализ со-первичной конечной точки у пациентов с высокой TMB (≥ 10 мутаций/Mb) показал значительное улучшение показателя PFS при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб по сравнению с химиотерапией (HR, 0,58; CI 97,5%, 0,41-0,81; P=0,0002) с показателем PFS в течение 1 года у 43% пациентов по сравнению с 13% пациентов, получавших химиотерапию, и медиана PFS составила 7,2 месяца (95% CI, 5,5-13,2) и 5,5 месяцев (95% CI, 4,4-5,8) соответственно. Фиг. 34A. В предварительном определенном многофакторном анализе PFS у пациентов с TMB ≥ 10 мутаций/Mb эффект лечения комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб против химиотерапии корректировали с учетом исходного уровня экспрессии PD-L1 ($\geq 1\%$, $< 1\%$), пола, гистологии опухоли (плоскоклеточный, неплоскоклеточный) и показатель ECOG PS (0, ≥ 1) соответствовал первичному анализу PFS (HR, 0,57; 95% CI, 0,40-0,80, многофакторная модель Кокса P = 0,0002). У пациентов с TMB < 10 мутаций/Mb не наблюдалось улучшения показателя PFS при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб по сравнению с химиотерапией (HR 1,07; 95% CI от 0,84 до 1,35); медиана PFS составила 3,2 месяца (95% CI, от 2,7 до 4,3) при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб и 5,5 месяцев (95% CI, от 4,3 до 5,6) при проведении химиотерапии. См. фиг. 35.

Показатель частоты объективного ответа составил 45,3% при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб и 26,9% при проведении химиотерапии (табл. 43) Eisenhauer, E.A., et al. Eur J Cancer, 45:228-47 (2009). Процент пациентов, отвечающих на лечение, с теми пациентами, у которых все еще наблюдался ответ через 1 год, составил 68% для комбинации ниволумаб плюс ипилимумаб и 25% для химиотерапии (фиг. 34B).

Таблица 43. Ответ опухоли у пациентов с ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб

Переменная	Ниволумаб плюс	
	ипилимумаб (n = 139)	Химиотерапия (n = 160)
Объективный ответ [†]		
Кол-во пациентов	63	43
% пациентов (95% CI)	45.3 (36.9–54.0)	26.9 (20.2–34.4)
Различие (95% CI)	18.4 (7.6–28.8)	
Наилучший общий ответ — кол-во (%)		
Полный ответ	5 (3.6)	1 (0.6)
Частичный ответ	58 (41.7)	42 (26.3)
Стабильное заболевание	37 (26.6)	88 (55.0)
Прогрессирование заболевания	22 (15.8)	19 (11.9)
Не может быть определено	17 (12.2)	10 (6.3)
Время до объективного ответа — мес. ‡§		
Медиана	2.7	1.5
Диапазон	1.2–9.5	1.2–6.9
Продолжительность объективного ответа — мес. ‡¶		
Медиана	NR	5.4
Диапазон	2.1–20.5+	2.6–18.1+
Частота ответа через 1 год, %		
Расчетаня	68	25
95% доверительный интервал	54–78	12–40

Данные основаны на базе данных, блокированной 24 января 2018 г.

[†] Объективный ответ оценивали в соответствии с Критериями оценки ответа в солидных опухолях, версия 1.1,27, путем слепого независимого центрального обзора. 95% доверительный интервал (CI) основан на методе Клоппера-Пирсона. Невзвешенную разницу в показателях объективных ответов между лечебными группами определяли методом Ньюкомба.

[‡] Анализ проводили с использованием данных от всех пациентов, которые имели ответ (63 пациента в группе ниволумаба и 43 в группе химиотерапии).

[§] Время до ответа было определено как время от рандомизации до даты первого документированного полного или частичного ответа.

Результаты рассчитывали с использованием метода Каплана-Мейера. Продолжительность ответа определяли как время между датой первого ответа и датой первого зарегистрированного события прогрессирования, смерти или последней оценки опухоли, которая была оценена перед последующей терапией (дата цензуры данных).

NR обозначает не достигнутый.

Выбранные подгруппы у пациентов с высокой ТМВ (≥ 10 мутаций/Мб) Анализ подгрупп по статусу PD-L1 показал, что показатель PFS улучшился при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилимумаб по сравнению с химиотерапией у пациентов с $\geq 1\%$ -ной экспрессией PD-L1 и у пациентов с $< 1\%$ -ной экспрессией PD-L1.

Фиг. 36А и 36В. Улучшение показателя PFS при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилиму-маб по сравнению с химиотерапией наблюдалось у пациентов с как плоскоклеточной, так и не плоскоклеточной гистологией опухоли. Фиг. 36С и 36D. В большинстве других подгрупп пациентов с ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб показатель PFS улучшился при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилиму-маб по сравнению с химиотерапией. Фиг. 36Е.

Монотерапия ниволумабом

Вторичной конечной точкой исследования являлась эффективность ниволумаба ($n = 79$) по сравнению с химиотерапией ($n = 71$) среди пациентов с ТМВ ≥ 13 мутаций/Мб и $\geq 1\%$ экспрессией PD-L1 (пациенты с экспрессией $< 1\%$ PD-L1 не подходили для лечения ниволумабом); в этой группе пациентов не наблюдалось улучшения показателя PFS при лечении ниволумабом (FIR, 0,95; 95% CI, 0,61, 1,48; $P = 0,7776$). Медиана PFS составила 4,2 месяца (95% CI, 2,7-8,3) при лечении ниволумабом и 5,6 месяцев (95% CI, 4,5-7,0) при проведении химиотерапии. Фиг. 37.

Среди пациентов с ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб и $\geq 1\%$ экспрессией PD-L1 медиана PFS составила 7,1 месяц (95% CI, 5,5-13,5) при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилиму-маб по сравнению с 4,2 месяцами (95% CI, 2,6-8,3) при монотерапии ниволумабом (HR, 0,75; 95% CI, от 0,53 до 1,07). Фиг. 38.

Результаты данного исследования демонстрируют, что у пациентов с распространенным NSCLC и ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб, лечение первой линии с помощью комбинации ниволумаб плюс ипилиму-маб ассоциируется с улучшенным показателем PFS по сравнению с химиотерапией. Положительный эффект комбинированной иммунотерапии был длительным: 43% пациентов не имели прогрессирования заболевания в течение 1 года (против 13% при химиотерапии), и 68% пациентов, имеющих ответ на лечение, имели продолжающиеся ответы через 1 год (против 25% при химиотерапии). Положительный эффект комбинации ниволумаб плюс ипилиму-маб наблюдался у пациентов с $\geq 1\%$ и $< 1\%$ экспрессией PD-L1, плоскоклеточной и неплоскоклеточной гистологией, и согласовывался по большинству других подгрупп. Несмотря на то, что у всех рандомизированных пациентов улучшенный показатель PFS наблюдался при лечении комбинацией ниволумаб плюс ипилиму-маб по сравнению с химиотерапией, ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб являлся эффективным биомаркером. Положительный эффект комбинации ниволумаб плюс ипилиму-маб был особенно увеличен у пациентов с высокой ТМВ, в то время как никакого эффекта по сравнению с химиотерапией не наблюдалось у пациентов с низкой ТМВ (< 10 мутаций/Мб). Кроме того, комбинация ниволумаб плюс ипилиму-маб имела улучшенную эффективность по сравнению с монотерапией ниволумабом у пациентов с ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб, что подчеркивает особую важность двойной блокады иммунной контрольной точки при NSCLC с ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб. Исследование продолжают на со-первичную конечную точку OS у пациентов, отобранных по PD-L1.

Данное исследование показывает, что ТМВ и экспрессия PD-L1 представляли собой независимые биомаркеры. Среди пациентов с высокой ТМВ положительный эффект комбинации ниволумаб плюс ипилиму-маб по сравнению с химиотерапией был сходным у пациентов с $\geq 1\%$ и $< 1\%$ экспрессией PD-L1 в опухоли. Таким образом, комбинация ниволумаб плюс ипилиму-маб представляет собой новую эффективную схему лечения для пациентов с ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб независимо от экспрессии PD-L1.

Безопасность комбинации ниволумаб плюс ипилиму-маб согласовывалась с ранее сообщенными данными в первой линии NSCLC. В предыдущем исследовании различные режимы дозирования комбинации ниволумаб плюс ипилиму-маб оценивали в 8 когортах, и было обнаружено, что режим, включающий ниволумаб 3 мг/кг каждые 2 недели плюс ипилиму-маб 1 мг/кг каждые 6 недель, хорошо переносится и является эффективным. Hellmann, M.D., et al. *Lancet Oncol*, 18:31-41 (2017). Эти результаты были подтверждены в нашем большом международном исследовании, при этом не наблюдалось никаких новых сигналов безопасности при применении комбинации. Показатели связанных с лечением выбранных неблагоприятных событий и связанных с лечением прекращений участия в исследовании, были лишь незначительно выше по сравнению с монотерапией ниволумабом, которая также хорошо переносилась, с низкими показателями выбранных неблагоприятных событий.

Хотя частота связанных с лечением неблагоприятных событий, приводящих к прекращению лечения, была выше при применении комбинации ниволумаб плюс ипилиму-маб, чем при химиотерапии, это может быть отчасти связано с более длительной продолжительностью лечения и более длительной PFS при применении комбинации ниволумаб плюс ипилиму-маб.

Остаются важные вопросы относительно роли комбинаций иммунотерапия/химиотерапия в сравнении с комбинациями иммунотерапия/химиотерапия, оптимальной последовательности терапий, способности ТМВ идентифицировать пациентов, которые могут получать благоприятный эффект от комбинаций иммунотерапия/химиотерапия, и возможности определения оптимального порогового значения ТМВ для монотерапии PD-1/L1. Учитывая, что результаты нашего исследования подтверждают клиническую пользу ТМВ в качестве важного и независимого биомаркера, необходимы согласованные многодисциплинарные усилия для обеспечения доступности достаточного количества опухолевой ткани для тестирования и приемлемого времени на обработку. Показатель 58% пациентов, имеющих подтвержденные результаты ТМВ, о которых сообщалось в данном исследовании, обусловлен, главным образом, ограниченной доступностью образцов опухолей в достаточном количестве или достаточного качества, что

является результатом ограниченной ткани, запрашиваемой для анализа биомаркеров в рамках исследования. В клинической практике, когда известно заранее о намерении провести тест на ТМВ и можно собрать и предоставить образцы опухоли в достаточном количестве и достаточного качества, можно ожидать успешное определение ТМВ для 80-95% пациентов, проходящих тестирование.²⁴ Исследование CheckMate 817 (NCT02869789), которое будет перспективно оценивать осуществимость тестирования ТМВ для комбинации ниволумаб плюс ипилимумаб в первой линии у пациентов с распространенным NSCLC и ТМВ ≥ 10 мутаций/Мб, может помочь выявить пробелы и возможности в образовании для оптимизации целесообразности проведения тестирования на ТМВ. Кроме того, ТМВ является надежным и воспроизводимым биомаркером, который одновременно обеспечивает обширное геномное профилирование посредством секвенирования следующего поколения множества потенциально терапевтически активных генов рака. Таким образом, тестирование на ТМВ повышает эффективность уже обычной технологии для обеспечения широко применимой, клинически важной информации в рамках одного теста для управления NSCLC в первой линии.

Лечение после прогрессирования и последующее наблюдение за общей выживаемостью

Продолжение лечения с применением ниволумаба или комбинации ниволумаб плюс ипилимумаб после прогрессирования разрешалось, если пациент имел клиническую пользу по оценкам исследователя, и продолжал хорошо переносить лечение. Пациентов наблюдали в отношении общей выживаемости каждые 3 месяца посредством личного контакта или по телефону после прекращения лечения исследуемым лекарственным средством.

Настоящая заявка испрашивает преимущество предварительной заявки США 62/479817, поданной 31 марта 2017 г., и 62/582146, поданной 6 ноября 2017 г., которые полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение ниволумаба для лечения субъекта, пораженного опухолью, причем уровень экспрессии PD-L1 в опухоли составляет 50% или больше, и при этом опухоль идентифицирована как имеющая статус мутационной нагрузки опухоли (ТМВ) в по меньшей мере 243 генетических изменений, как изменено анализом геномного профилирования, включающим ABL1, BRAF, CHEK1, FANCC, GATA3, JAK2, MITF, PDCD1LG2 (PD-L2), RBM10, STAT4, ABL2, BRCA1, CHEK2, FANCD2, GATA4, JAK3, MLH1, PDGFRA, RET, STK11, ACVR1B, BRCA2, CIC, FANCE, GATA6, JUN, MPL, PDGFRB, RICTOR, SUFU, AKT1, BRD4, CREBBP, FANCF, GID4 (C17orf 39), KAT6A (MYST 3), MRE11A, PDK1, RNF43, SYK, AKT2, BRIP1, CRKL, FANCG, GLII, KDM5A, MSH2, PIK3C2B, ROS1, TAF1, AKT3, BTG1, CRLF2, FANCL, GNA11, KDM5C, MSH6, PIK3CA, RPTOR, TBX3, ALK, BTK, CSF1R, FAS, GNA13, KDM6A, MTOR, PIK3CB, RUNX1, TERC, AMER1 (FAM123B), C11orf 30 (EMSY), CTCF, FAT1, GNAQ, KDR, MUTYH, PIK3CG, RUNX1T1, TERT(Promoter only), APC, CARD11, CTNNA1, FBXW7, GNAS, KEAP1, MYC, PIK3R1, SDHA, TET2, AR, CBFB, CTNN, B1, FGF10, GPR124, KEL, MYCL (MYC LI), PIK3R2, SDHB, TGFB2, ARAF, CBL, CUL3, FGF14, GRIN2A, KIT, MYCN, PLCG2, SDHC, TNFAIP3, ARFRP1, CCND1, CYLD, FGF19, GRM3, KLHL6, MYD88, PMS2, SDHD, TNFRSF14, ARID1A, CCND2, DAXX, FGF23, GSK3B, KMT2A (MLL), NF1, POLD1, SETD2, TOPI, ARID1B, CCND3, DDR2, FGF3, H3F3A, KMT2C (MLL3), NF2, POLE, SF3B1, TOP2A, ARID2, CCNE1, DICER1, FGF4, HGF, KMT2D (MLL2), NFE2L2, PPP2R1A, SLIT2, TP53, ASXL1, CD274 (PD-L1), DNMT3A, FGF6, HNF1A, KRAS, NFKBIA, PRDM1, SMAD2, TSC1, ATM, CD79A, DOT1L, FGFR1, HRAS, LMO1, NKX2-1, PREX2, SMAD3, TSC2, ATR, CD79B, EGFR, FGFR2, HSD3B1, LRP1B, NOTCH1, PRKAR1A, SMAD4, TSHR, ATRX, CDC73, EP300, FGFR3, HSP90AA1, LYN, NOTCH2, PRKCI, SMARCA4, U2AF1, AURKA, CDH1, EPHA3, FGFR4, IDH1, LZTR1, NOTCH3, PRKDC, SMARCB1, VEGFA, AURKB, CDK12, EPHA5, FH, IDH2, MAGI2, NPM1, PRSS8, SMO, VHL, AXIN1, CDK4, EPHA7, FLCN, IGF1R, MAP2K1 (MEK1), NRAS, PTCH1, SNCAIP, WISP3, AXL, CDK6, EPHB1, FLT1, IGF2, MAP2K2 (MEK2), NSD1, PTEN, SOCS1, WT1, BAP1, CDK8, ERBB2, FLT3, IKBKE, MAP2K4, NTRK1, PTPN11, SOX10, XPO1, BARD1, CDKN1A, ERBB3, FLT4, IKZF1, MAP3K1, NTRK2, QKI, SOX2, ZBTB2, BCL2, CDKN1B, ERBB4, FOXL2, IL7R, MCL1, NTRK3, RAC1, SOX9, ZNF217, BCL2L1, CDKN2A, ERG, FOXP1, INHBA, MDM2, NUP93, RAD50, SPEN, ZNF703, BCL2L2, CDKN2B, ERFF1, FRS2, INPP4B, MDM4, PAK3, RAD51, SPOP, BCL6, CDKN2C, ESR1, FUBP1, IRF2, MED12, PALB2, RAF1, SPTA1, BCOR, CEVPA, EZH2, GABRA6, IRF4, MEF2B, PARK2, RANBP2, SRC, BCORL1, CHD2, FAM46C, GATA1, IRS2, MEN1, PAX5, RARA, STAG2, BLM, CHD4, FANCA, GATA2, JAK1, MET, PBRM1, RB1, STAT3.

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что статус ТМВ субъекта измеряют до лечения.

3. Применение по п.1 или 2, отличающееся тем, что статус ТМВ субъекта определяют путем секвенирования нуклеиновых кислот в опухоли и идентификации геномного изменения в секвенированных нуклеиновых кислотах.

4. Применение по п.3, отличающееся тем, что опухоль имеет одно или более геномных изменений, представляющих собой:

(a) соматическую мутацию;

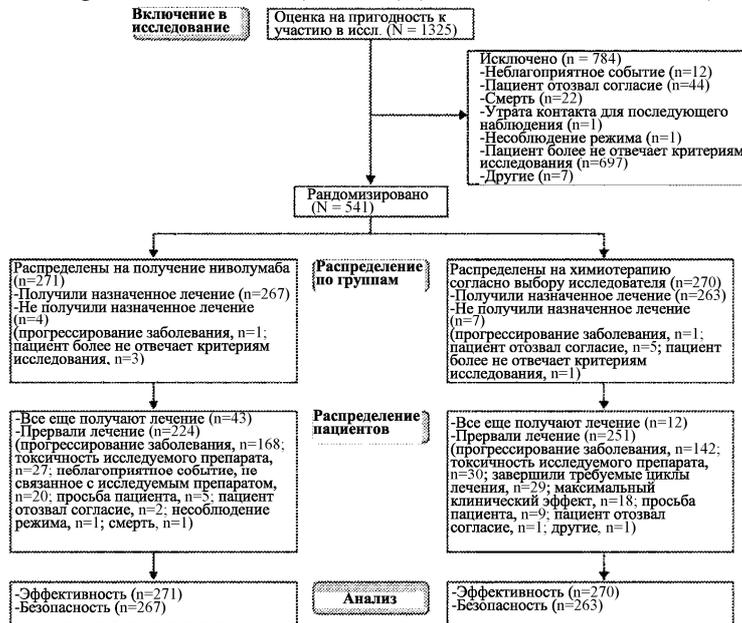
- (b) несинонимическую мутацию;
- (c) миссенс-мутацию;
- (d) замену пары оснований;
- (e) вставку пары оснований;
- (f) делецию пары оснований;
- (g) изменение количества копий (CNA);
- (h) перестройку генов или
- (i) любую комбинацию (a)-(h).

5. Применение по любому из пп.1-4, отличающееся тем, что опухоль включает рак легкого, почечно-клеточную карциному, рак яичника, колоректальный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак пищевода, рак мочевого пузыря, рак легкого или меланому.

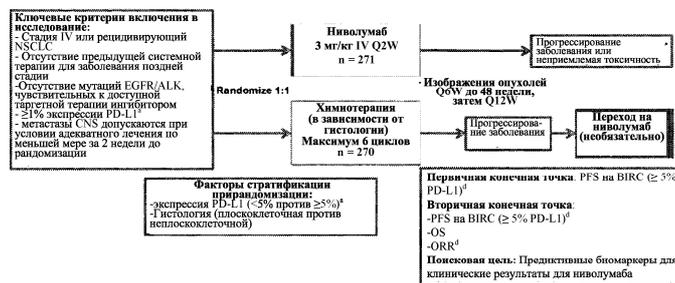
6. Применение по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество ниволумаба составляет от около 0,1 до около 10,0 мг/кг массы тела или от около 200 до около 1200 мг, вводимое один раз каждые 2, 3 или 4 недели.

7. Применение по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество ниволумаба составляет около 200 мг, около 240 или 480 мг.

8. Применение по любому из пп.1-7, отличающееся тем, что субъект, кроме того, получает лечение антителом или его антигенсвязывающей частью, которое специфически связывается с цитотоксическим ассоциированным с Т-лимфоцитом белком-4 (CTLA-4) ("анти-CTLA-4 антитело").

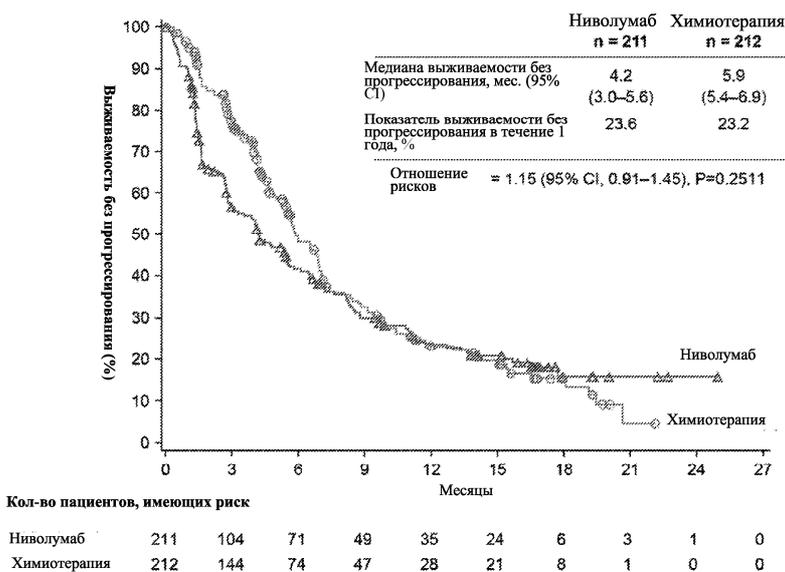


Фиг. 1

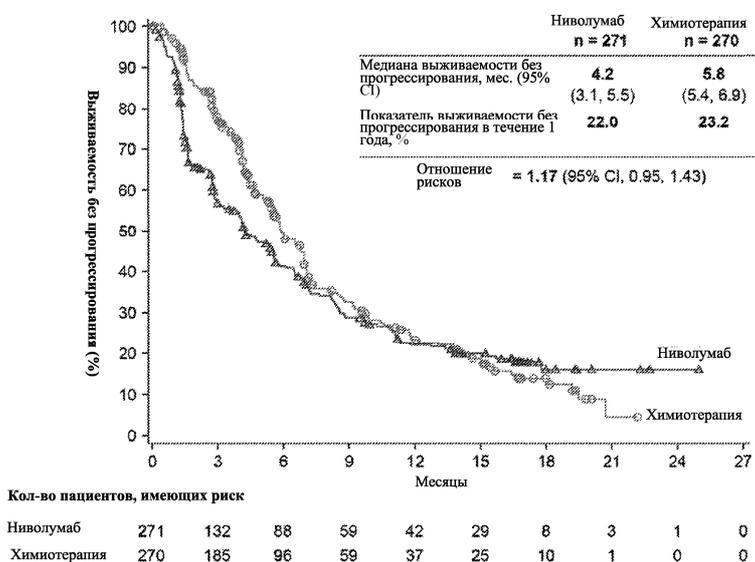


^aУтвержденный тест Dako 28-8; разрешались архивные образцы опухолей, полученные за ≤6 месяцев до включения в исследование; деситеринин на PD-L1; было детерминировано.
^bСравнимый: гемцитабин 1250 мг/м² + цисплатин 75 мг/м²; гемцитабин 1000 мг/м² + карбоплатин AUC 5; паклитаксел 200 мг/м² + карбоплатин AUC 6;
 непоследовательный: пеметресед 500 мг/м² + цисплатин 75 мг/м²; пеметресед 500 мг/м² + карбоплатин AUC 6; условие для поддержания эффективности терапии пеметреседом.
^cРазрешается при условии удовлетворения критерию приемлемости перехода, включая прогрессирование, подтвержденное независимой радиологической экспертизой.
^dОценка ответа опухоли в отношении PFS и ORR согласно RECIST v1.1 согласно оценке независимой централизованной проверки.
 ALC = кинеза анапластической лимфомы; CNS = центральная нервная система; EGFR = рецептор эпидермального фактора роста; IV = внутривенно; NSCLC = немелкоклеточный рак легкого; OS = общая выживаемость; ORR = частота объективного ответа; PD-L1 = дигидро пирамидиновой смерти - 1; PFS = выживаемость без прогрессирования; Q2W = каждые 2 недели; Q9W = каждые 6 недель; Q12W = каждые 12 недель; RECIST = критерии оценки ответа в солидных опухолях.

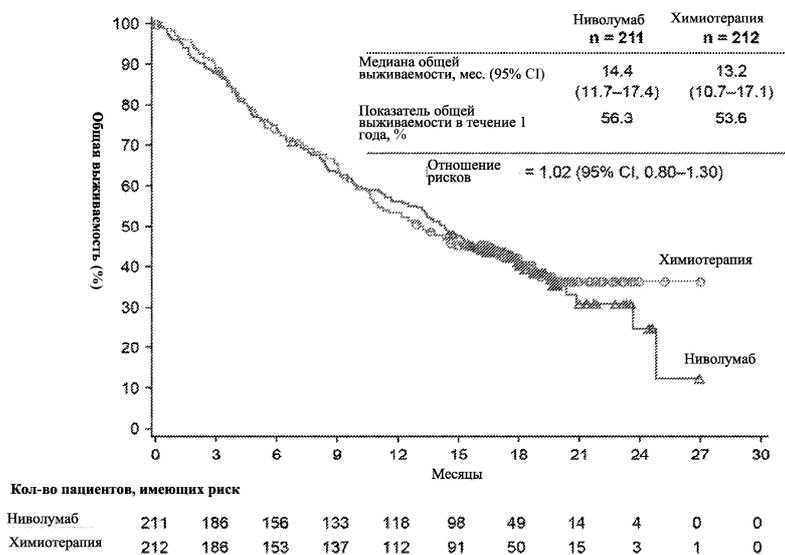
Фиг. 2



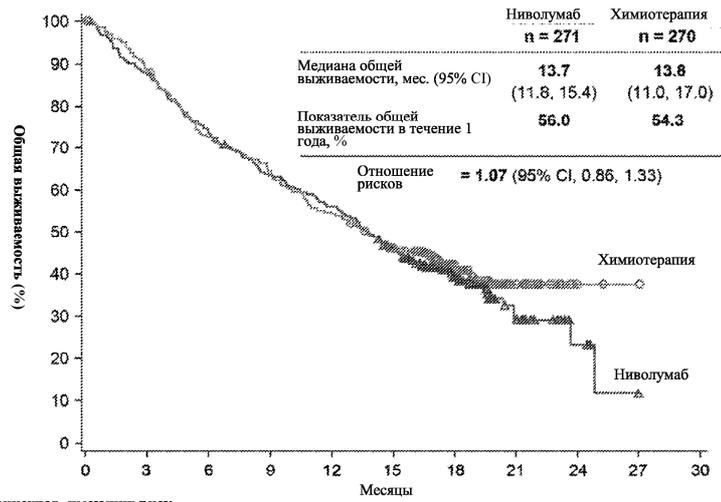
Фиг. 3



Фиг. 4



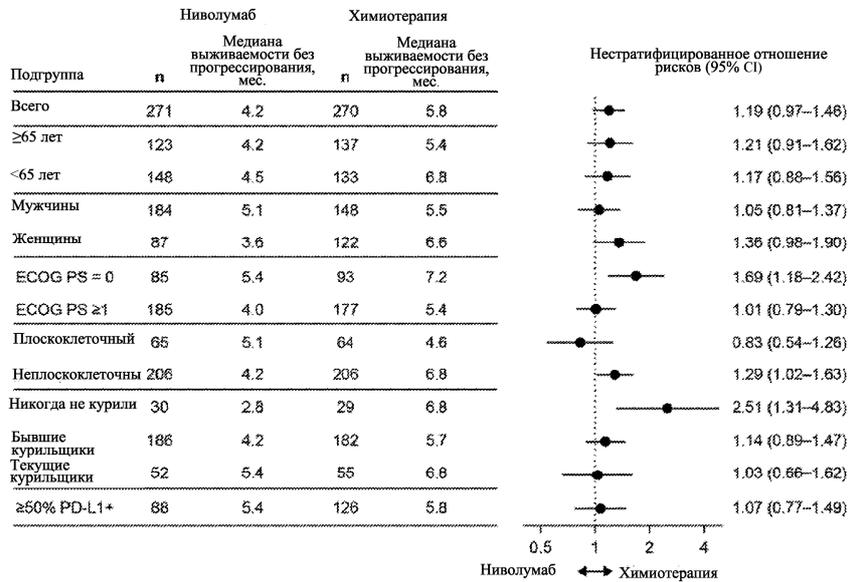
Фиг. 5



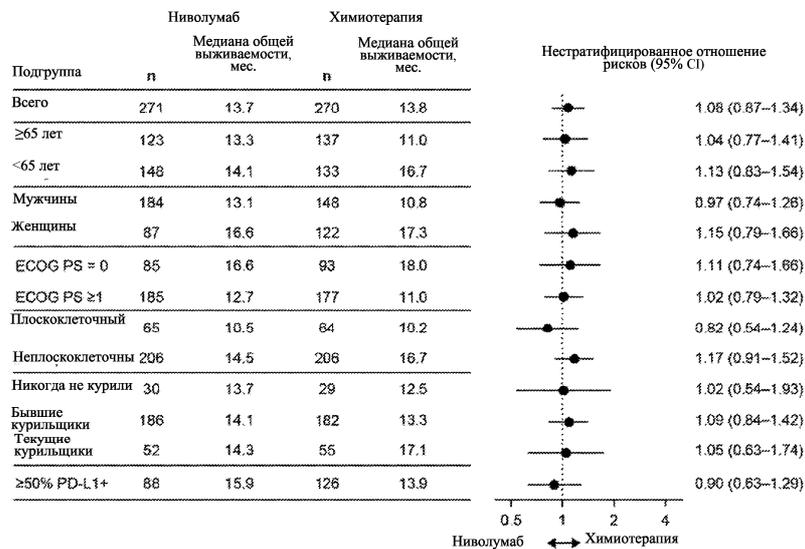
Кол-во пациентов, имеющих риск

Ниволумаб	271	237	200	171	151	120	62	17	4	0	0
Химиотерапия	270	237	194	173	145	119	61	20	3	1	0

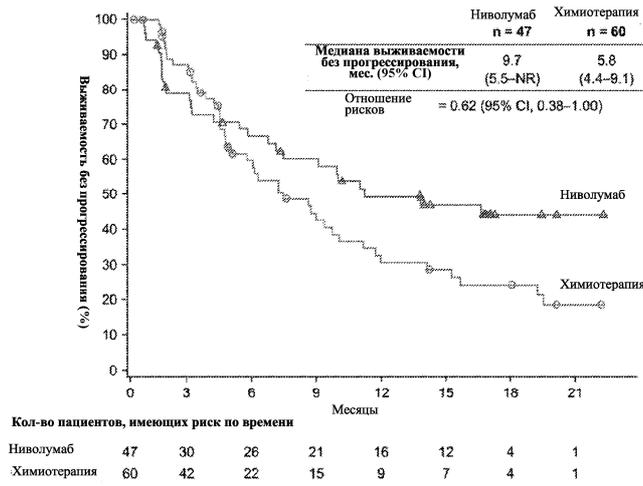
Фиг. 6



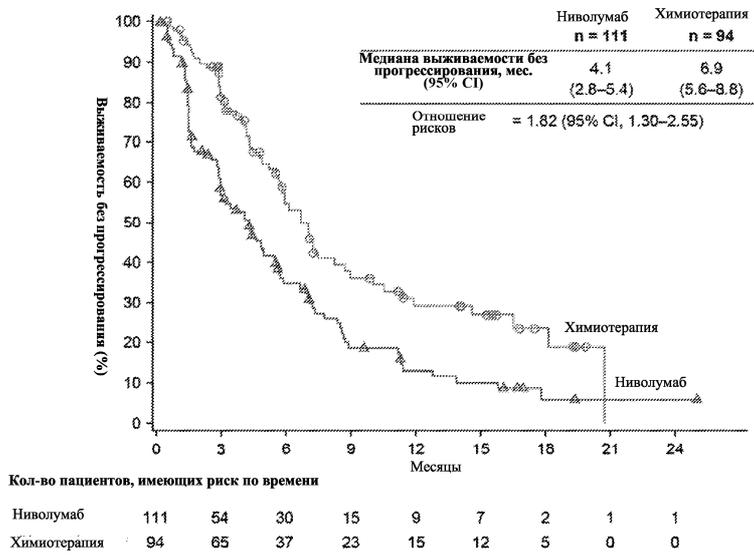
Фиг. 7



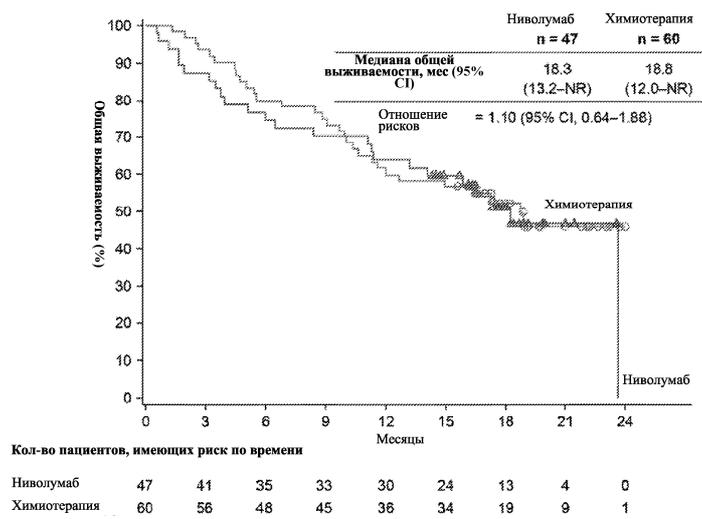
Фиг. 8



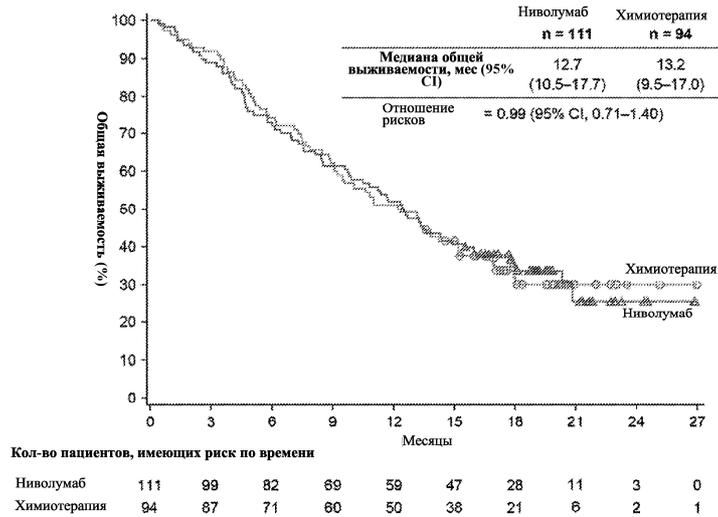
Фиг. 9



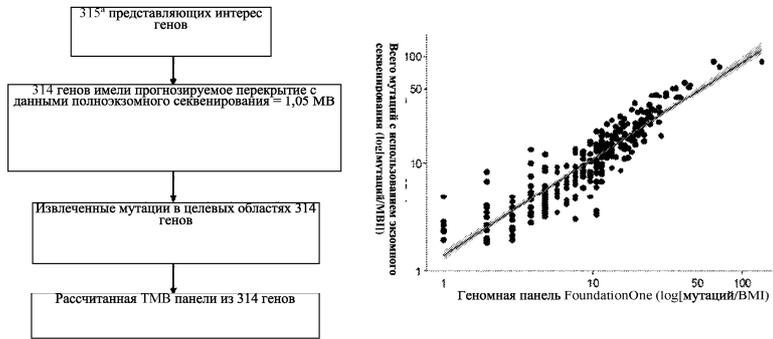
Фиг. 10



Фиг. 11

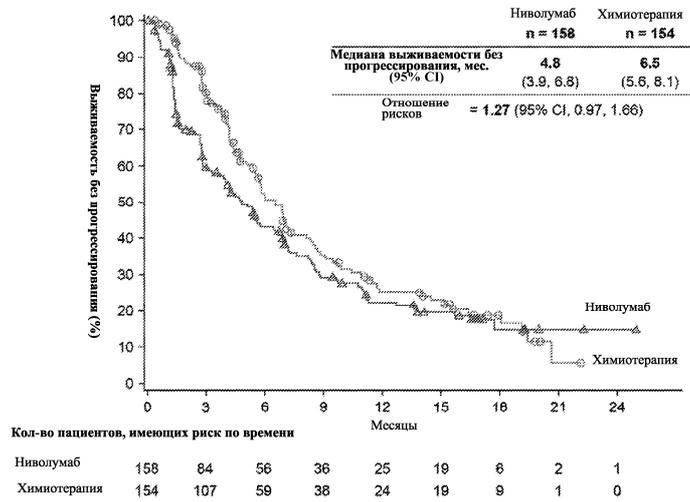


Фиг. 12

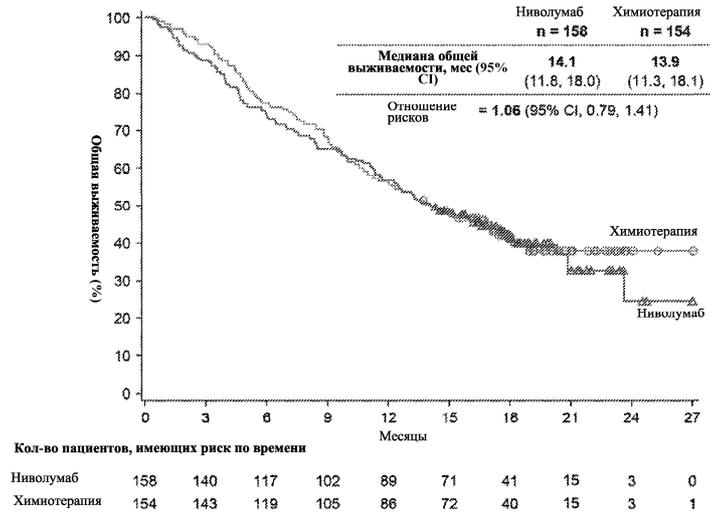


[†]На основе анализа in silico фильтрации генов в комплексном геномном профилировании FoundationOne (Foundation Medicine, Inc. Cambridge, MA, USA)
 1 Frampton GM et al. Nat Biotechnol 2013;31:1023-31

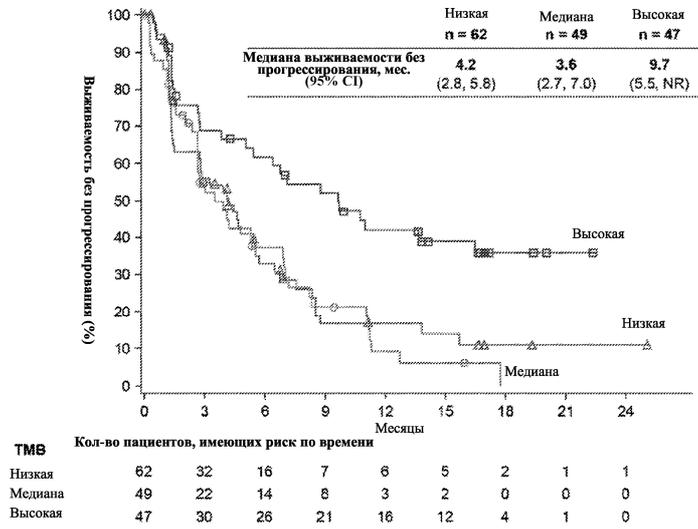
Фиг. 13



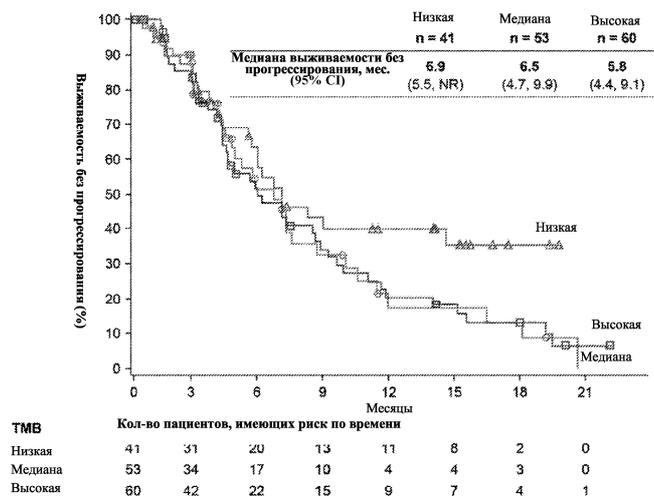
Фиг. 14



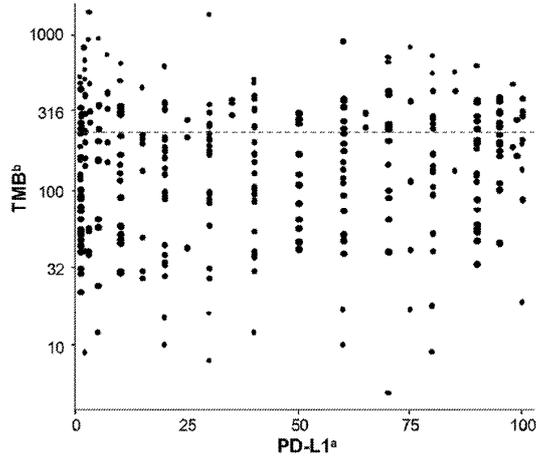
Фиг. 15



Фиг. 16

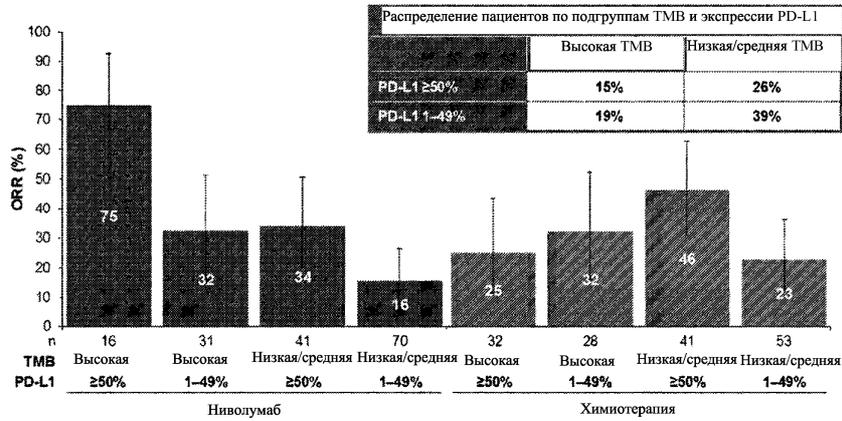


Фиг. 17

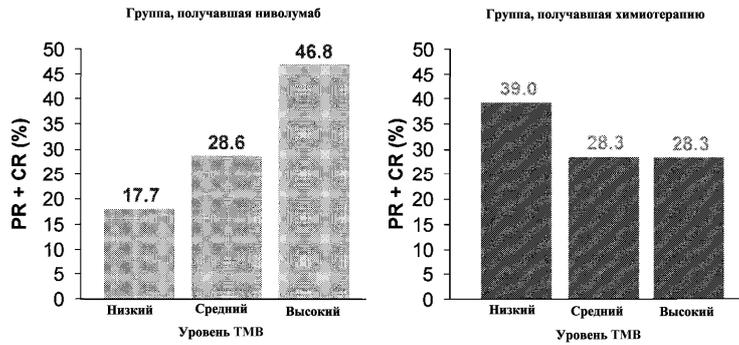


Коэффициент корреляции Пирсона = 0,059
 *Все пациенты имели $\geq 1\%$ экспрессии PD-L1 в опухоли
 *Красная пунктирная линия указывает на 243 мутации

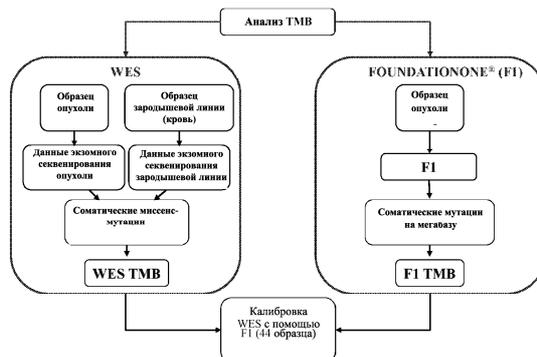
Фиг. 18



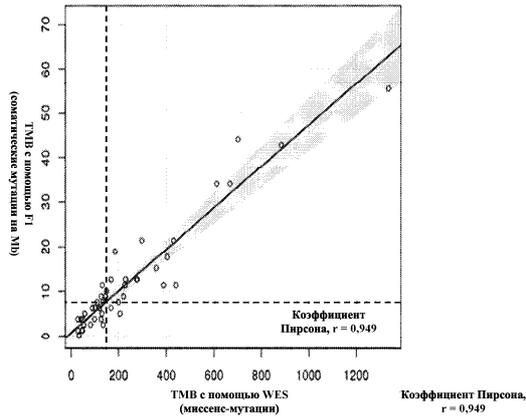
Фиг. 19



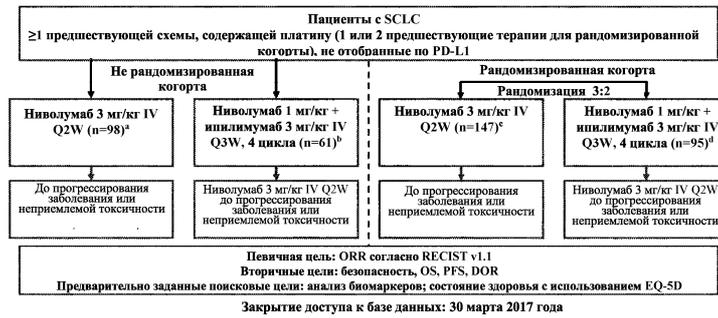
Фиг. 20



Фиг. 21

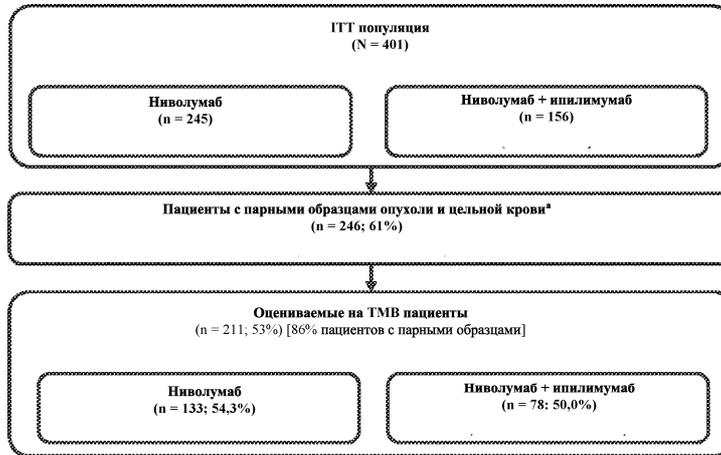


Фиг. 22



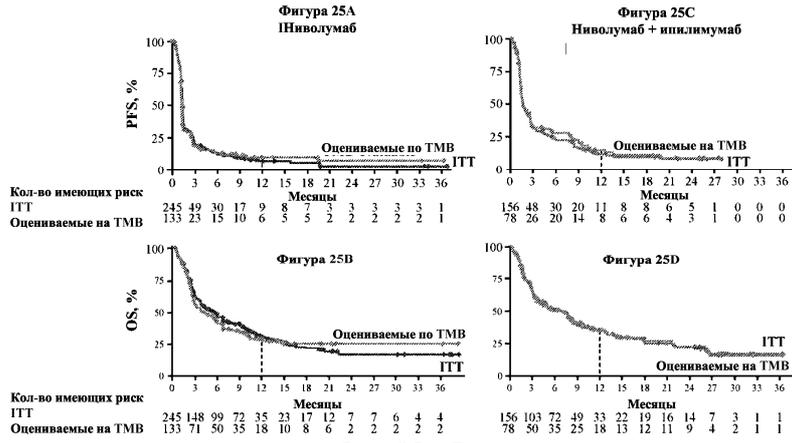
DOR = длительность ответа; EQ-5D – EuroQol-5 Dimensions; ORR = частота объективного ответа; OS = общая выживаемость; PD-L1 – дигидропиридиновый белок; PFS = выживаемость без прогрессирования
^aМедиана периода последующего наблюдения 23,3 месяца; ^bМедиана периода последующего наблюдения 28,6 месяцев; ^cМедиана периода последующего наблюдения 10,8 месяцев; ^dМедиана периода последующего наблюдения 11,7 месяцев. На основе данных их предыдущей базы данных из предыдущей блокировки базы данных, только пациенты в когорте, получавших 1 мг/кг ниволумаба + 3 мг/кг ипилимуаб и монотерапию 3 мг/кг ниволумаба, были отобраны для последующего исследования SCLC

Фиг. 23

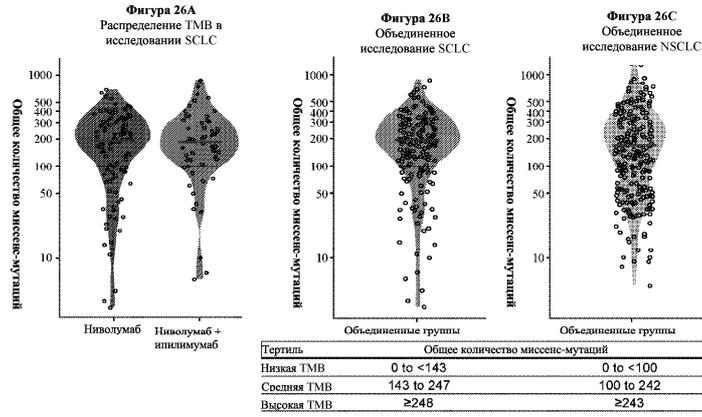


^aДля секвенирования зародышевой линии

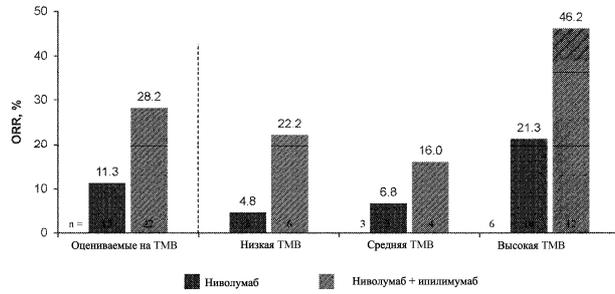
Фиг. 24



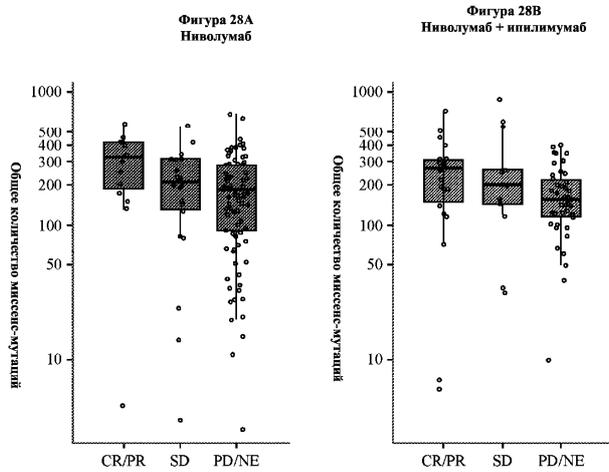
Фиг. 25А-Д



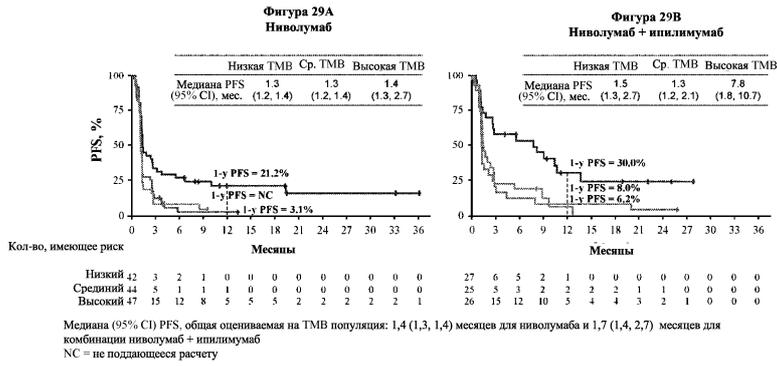
Фиг. 26А-С



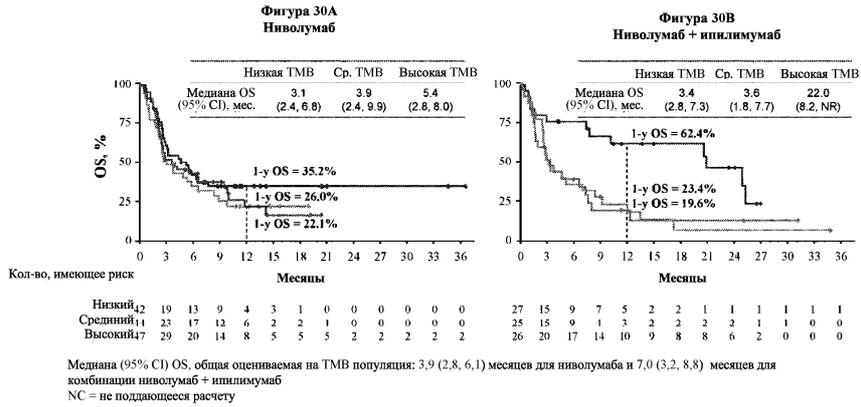
Фиг. 27



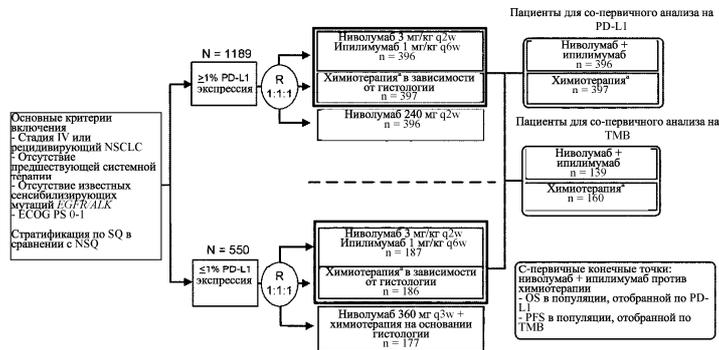
Фиг. 28



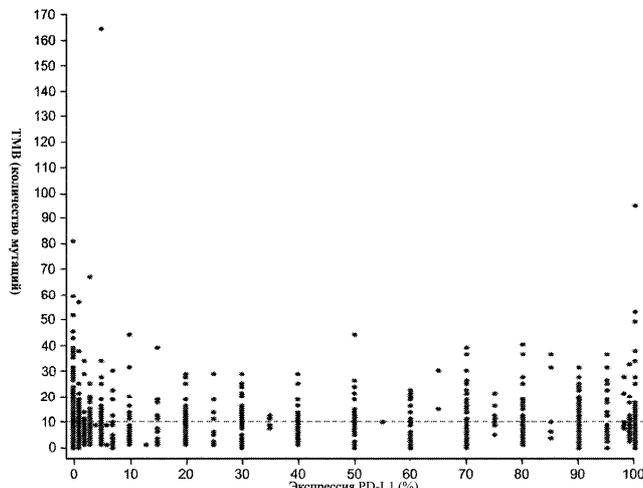
Фиг. 29



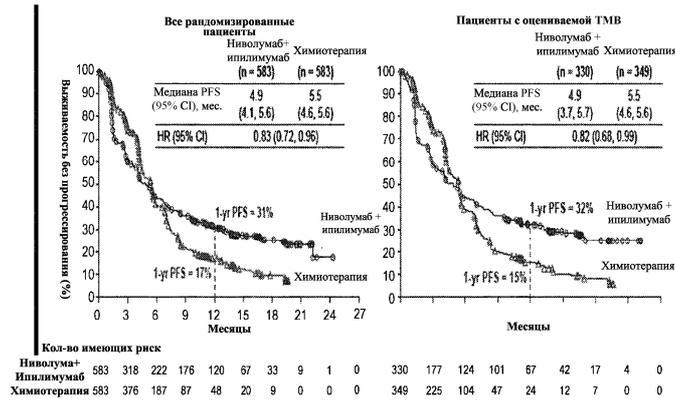
Фиг. 30



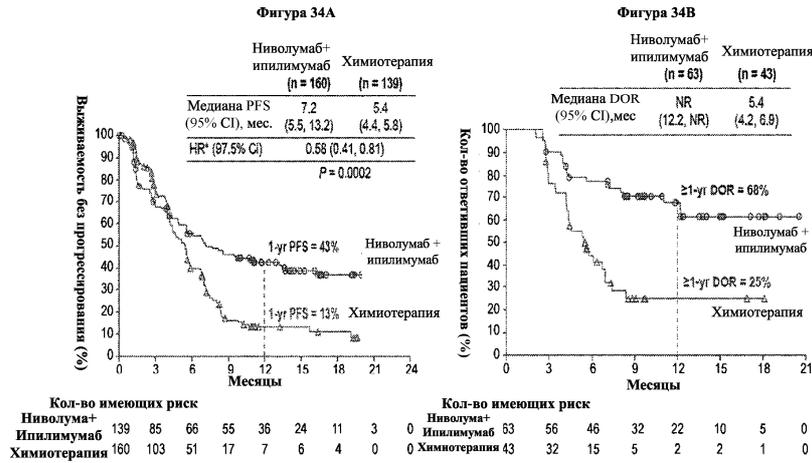
Фиг. 31



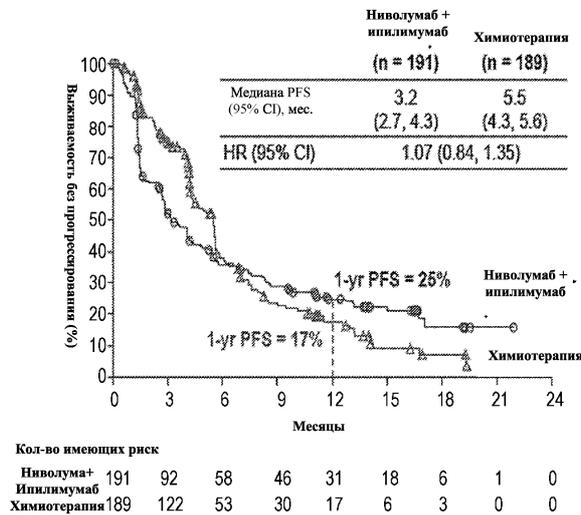
Фиг. 32



Фиг. 33

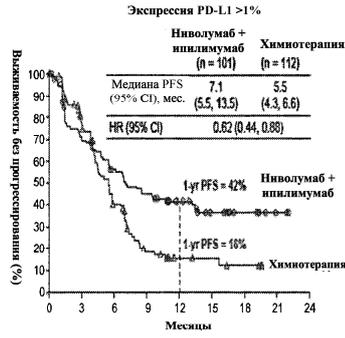


Фиг. 34

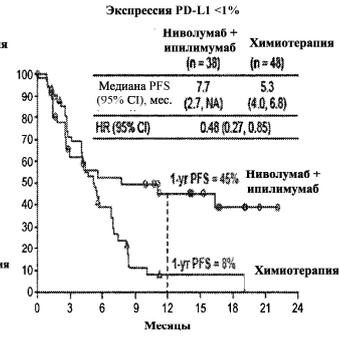


Фиг. 35

Фигура 36А



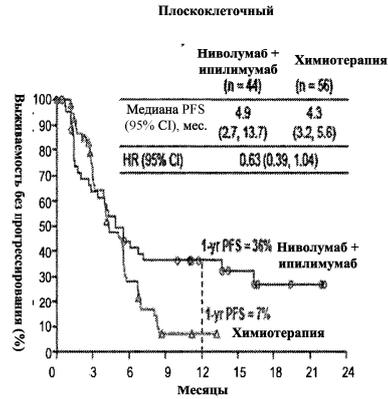
Фигура 36В



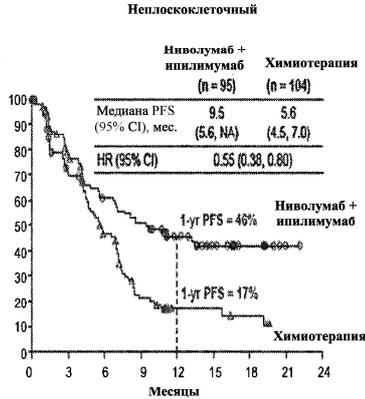
Кол-во имеющих риск

	Ниволумаб+Ипилимуаб	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Ниволумаб+Ипилимуаб	101	65	50	40	26	16	7	2	0					
Химиотерапия	112	73	35	13	6	5	3	0	0					

Фигура 36С



Фигура 36В

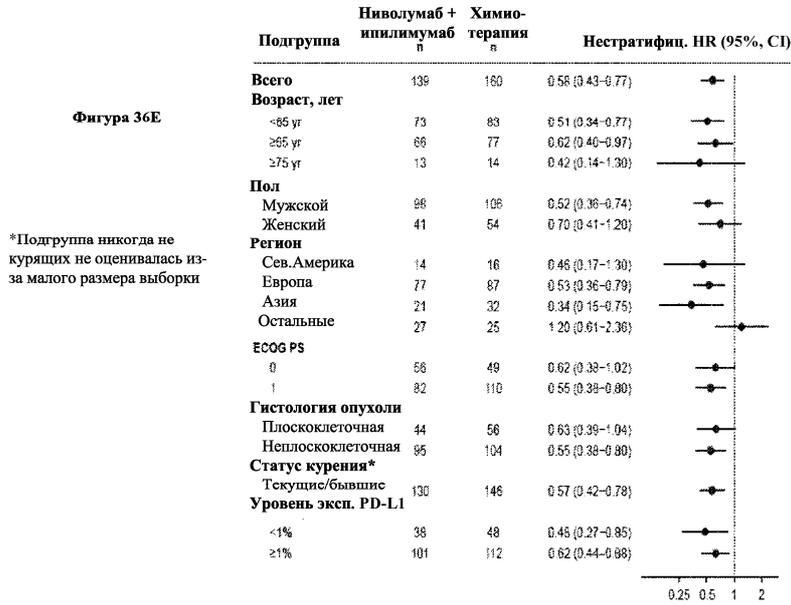


Кол-во имеющих риск

	Ниволумаб+Ипилимуаб	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Ниволумаб+Ипилимуаб	26	17	14	9	6	3	2	0								
Химиотерапия	33	13	2	1	0	0	0	0								

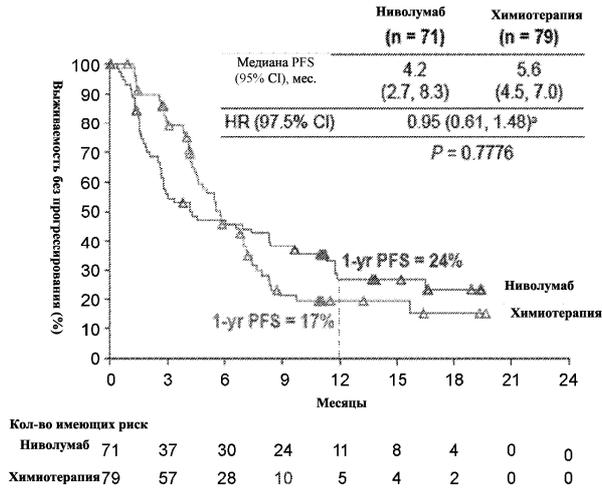
Кол-во имеющих риск

	Ниволумаб+Ипилимуаб	95	59	49	41	27	18	8	1	0
Ниволумаб+Ипилимуаб	95	59	49	41	27	18	8	1	0	
Химиотерапия	104	70	38	15	6	6	4	0	0	

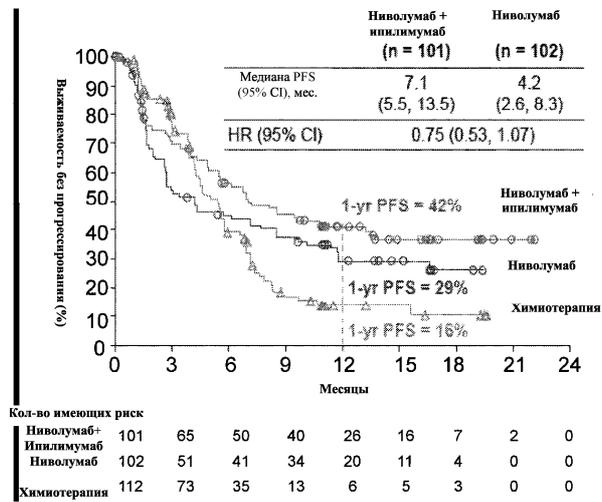


*Подгруппа никогда не курящих не оценивалась из-за малого размера выборки

Фиг. 36А-Е



Фиг. 37



Фиг. 38

