

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046895**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.05.07

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

(21) Номер заявки
201892577

(22) Дата подачи заявки
2017.06.01

(54) **СПОСОБ И НАБОР ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СУБЪЕКТА, СТРАДАЮЩЕГО ОТ ОПУХОЛИ, ПРОИСХОДЯЩЕЙ ИЗ НЕХОДЖКИНСКОЙ ЛИМФОМЫ, ИЛИ ОПУХОЛИ, ПРОИСХОДЯЩЕЙ ИЗ ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА**

(31) **62/344,866; 62/382,839**

(32) **2016.06.02; 2016.09.02**

(33) **US**

(43) **2019.04.30**

(86) **PCT/US2017/035521**

(87) **WO 2017/210473 2017.12.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ; СИДЖЕН ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Фарсачи Бенедетто, Джозефсон Нил,
Као Энтони, Хейзер Райан (US)**

(74) Представитель:
Угрюмов В.М. (RU)

(56) STEPHEN M. ANSELL ET AL:
"PD-1 Blockade with Nivolumab in Relapsed or Refractory Hodgkin's Lymphoma", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, THE - NEJM -, vol. 372, no. 4, 22 January 2015 (2015-01-22), pages 311-319, XP055239003, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoal411087 the whole document

JOSEPH MALY ET AL: "Pembrolizumab in classical Hodgkin's lymphoma", EUROPEAN JOURNAL OF HAEMATOLOGY., vol. 97, no. 3, 30 May 2016 (2016-05-30), pages 219-227, XP55392313, DK ISSN: 0902-4441, DOI: 10.1111/ejh.12770 the whole document

(57) Настоящее изобретение относится к способам лечения опухоли у субъекта, предусматривающим введение субъекту антитела к PD-1 и антитела к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль происходит из лимфомы (например, лимфомы Ходжкина или неходжкинской лимфомы). Согласно определенным вариантам осуществления антитело к CD30 представляет собой конъюгат антитела и лекарственного средства, например, брентуксимаба ведотина.

046895
B1

046895
B1

Описание

Область техники, к которой относится настоящее изобретение

Настоящее раскрытие относится к способам лечения опухоли у субъекта, предусматривающим введение субъекту антитела к белку-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) и антитела к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль происходит из лимфомы. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль происходит из лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы или их комбинации.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Формы рака у человека предусматривают множество генетических и эпигенетических изменений, в результате которых образуются неоантигены, потенциально узнаваемые иммунной системой (Sjoblom et al., (2006) Science 314:268-74). Адаптивная иммунная система, предусматривающая Т- и В лимфоциты, обладает мощным противораковым потенциалом, с широким диапазоном способностей и исключительной специфичностью в отношении ответа на различные опухолевые антигены. Кроме того, иммунная система характеризуется существенной пластичностью и составляющей в виде иммунной памяти. Успешное использование всех этих свойств адаптивной иммунной системы сделало бы иммунотерапию уникальной среди всех методов лечения рака.

До недавнего времени при разработке иммунотерапии рака значительные усилия были сфокусированы на подходах, которые обеспечивают усиление противоопухолевых иммунных ответов за счет адоптивного переноса активированных эффекторных клеток, иммунизации в отношении соответствующих антигенов или обеспечения неспецифических иммуностимулирующих средств, таких как цитокины. Однако за последнее десятилетие напряженные усилия по разработке специфических ингибиторов сигнальных путей с участием контрольных точек иммунного ответа дали начало новым иммунотерапевтическим подходам к лечению рака, включая разработку антитела, ипилимумаба (YERVOY®), которое связывается с CTLA-4 и ингибирует его, для лечения пациентов с генерализованной меланомой (Hodi et al., 2010 N Engl J Med 363:711-23) и разработку антител, таких как ниволумаб и пембролизумаб (ранее известный как ламбролизумаб; назначение совета USAN, 2013 год), которые специфически связываются с рецептором-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) и блокируют ингибирующий путь PD-1/лиганд PD-1 (Topalian et al, N Engl J Med 366:2443-54 (2012a); Topalian et al., Curr Opin Immunol 24:207-12 (2012b); Topalian et al, J Clin Oncol 32(10): 1020-30 (2014); Hamid et al, N Engl J Med 369:134-144 (2013); Hamid and Carvajal, Expert Opin Biol Ther 13(6):847-61 (2013); и McDermott and Atkins, Cancer Med 2(5): 662-73 (2013)).

Направленная терапия в отношении иммунных ответов, регулируемых несколькими избыточными молекулярными путями, может обеспечить улучшение противоопухолевой иммунотерапии. Однако не все комбинации характеризуются приемлемой безопасностью и/или эффективностью. Остается потребность в комбинированных терапевтических препаратах с приемлемым профилем безопасности и высокой эффективностью, которые обеспечивают усиление противоопухолевых иммунных ответов по сравнению с монотерапией и другими иммунотерапевтическими комбинациями.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

Настоящее раскрытие относится к способу лечения субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из неходжкинской лимфомы, предусматривающему введение субъекту: (а) антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с рецептором-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) и ингибируют активность PD-1 ("антитело к PD-1"); и (b) антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с CD30 ("антитело к CD30"). Согласно некоторым вариантам осуществления неходжкинская лимфома представляет собой рецидивную или рефрактерную неходжкинскую лимфому. Согласно определенным вариантам осуществления неходжкинская лимфома выбрана из группы, состоящей из диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), периферической Т-клеточной лимфомы (PTCL), кожной Т-клеточной лимфомы (CTCL) и любой их комбинации.

Настоящее раскрытие также относится к способу лечения субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из лимфомы Ходжкина, предусматривающему введение субъекту: (а) антитела к PD-1; и (b) антитела к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления лимфома Ходжкина представляет собой классическую лимфому Ходжкина (cHL).

Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль содержит одну или несколько клеток, которые экспрессируют CD30. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере 1% опухолевых клеток экспрессируют CD30.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к CD30 перекрестно конкурирует с сAC10 за связывание с CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к CD30 предусматривает сAC10. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к CD30 представляет собой антитело к CD30, конъюгированное с терапевтическим средством ("конъюгат антитела к CD30 и лекарственного средства"). Согласно определенным вариантам осуществления терапевтическое средство предусматривает монометил ауристатин Е (ММАЕ). Согласно одному конкретному варианту осуществления антитело к CD30 представляет собой брентуксимаб ведотин.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 перекрестно конкурирует с ниво-

лумабом за связывание с PD-1 человека. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. Согласно одному конкретному варианту осуществления антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 3 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 2 недели. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к CD30 вводят в дозе 1,8 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 3 недели.

Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль содержит одну или несколько клеток, которые экспрессируют PD-L1, PD-L2, или как одно, так и другое.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект получал по меньшей мере одно предшествующее химиотерапевтическое лечение. Согласно определенным вариантам осуществления у субъекта не наблюдался ответ на предшествующее химиотерапевтическое лечение.

Согласно некоторым вариантам осуществления способ дополнительно предусматривает применение у пациента трансплантации стволовых клеток после введения антитела к PD-1 и антитела к CD30.

Настоящее раскрытие дополнительно относится к набору для лечения страдающего от рака субъекта, причем набор содержит: (a) дозировку антитела к PD-1 в диапазоне от приблизительно 4 мг до приблизительно 500 мг; (b) дозу антитела к CD30 в диапазоне от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 500 мг; и (c) инструкции по применению антитела к PD-1 и антитела к CD30 в способе.

Настоящее раскрытие дополнительно относится к набору для лечения страдающего от лимфомы субъекта, причем набор содержит: (a) дозировку антитела к PD-1 в диапазоне от приблизительно 4 мг до приблизительно 500 мг; (b) дозу брентуксимаба ведотина в диапазоне от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 500 мг; и (c) инструкции по применению антитела к PD-1 и брентуксимаба ведотина в способе.

Варианты осуществления

E1. Способ лечения субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из неходжкинской лимфомы, предусматривающий введение субъекту: (a) антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с рецептором-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) и ингибируют активность PD-1 ("антитело к PD-1"); и (b) антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с CD30 ("антитело к CD30").

E2. Способ согласно варианту осуществления E1, в котором неходжкинская лимфома представляет собой рецидивную или рефрактерную неходжкинскую лимфому.

E3. Способ согласно варианту осуществления E1 или E2, в котором неходжкинская лимфома выбрана из группы, состоящей из диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), периферической Т-клеточной лимфомы (PTCL), кожной Т-клеточной лимфомы (CTCL) и любой их комбинации.

E4. Способ лечения субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из лимфомы Ходжкина, предусматривающий введение субъекту: (a) антитела к PD-1; и (b) антитела к CD30.

E5. Способ согласно варианту осуществления E4, в котором лимфома Ходжкина представляет собой классическую лимфому Ходжкина (cHL).

E6. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E5, в котором опухоль содержит одну или несколько клеток, которые экспрессируют CD30.

E7. Способ согласно варианту осуществления E6, в котором по меньшей мере приблизительно 0,1%, по меньшей мере приблизительно 1%, по меньшей мере приблизительно 2%, по меньшей мере приблизительно 3%, по меньшей мере приблизительно 4%, по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 6%, по меньшей мере приблизительно 7%, по меньшей мере приблизительно 8%, по меньшей мере приблизительно 9%, по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 45%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70% или по меньшей мере приблизительно 80% опухолевых клеток экспрессируют CD30.

E8. Способ согласно варианту осуществления E6 или E7, в котором приблизительно по меньшей мере 1% опухолевых клеток экспрессируют CD30.

E9. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E8, в котором введение обеспечивает лечение опухоли.

E10. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E9, в котором антитело к CD30 перекрестно конкурирует с с AC10 за связывание с CD30.

E11. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E9, в котором антитело к CD30 предусматривает сAC10.

E12. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E11, в котором антитело к CD30 представляет собой антитело к CD30, конъюгированное с терапевтическим средством ("конъюгат антитела к CD30 и лекарственного средства").

E13. Способ согласно варианту осуществления E12, в котором терапевтическое средство преду-

смачивает антинеопластическое средство.

E14. Способ согласно варианту осуществления E13, в котором антинеопластическое средство представляет собой антимитотическое средство.

E15. Способ согласно любому из вариантов осуществления E12-E14, в котором терапевтическое средство предусматривает монометил ауристатин E (ММАЕ).

E16. Способ согласно любому из вариантов осуществления E12-E15, в котором конъюгат антитела к CD30 и лекарственного средства дополнительно предусматривает линкер между терапевтическим средством и антителом.

E17. Способ согласно варианту осуществления E16, в котором линкер представляет собой расщепляемый линкер.

E18. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E17, в котором антитело к CD30 представляет собой брентуксимаб ведотин.

E19. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E18, в котором антитело к PD-1 перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с PD-1 человека.

E20. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E19, в котором антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб.

E21. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E20, в котором антитело к PD-1 представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело, моноклональное антитело человека или их часть.

E22. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E21, в котором антитело к PD-1 содержит константную область тяжелой цепи, которая происходит из изоформа IgG1 или IgG4 человека.

E23. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E22, в котором антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб.

E24. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E22, в котором антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб.

E25. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E24, в котором антитело к PD-1 вводят в дозе в диапазоне от по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг до по меньшей мере приблизительно 10,0 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 1, 2 или 3 недели.

E26. Способ согласно варианту осуществления E25, в котором антитело к PD-1 вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 3 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 2 недели.

E27. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E24, в котором антитело к PD-1 вводят в постоянной дозе.

E28. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E24 и E27, в котором антитело к PD-1 вводят в постоянной дозе по меньшей мере приблизительно 200 мг, по меньшей мере приблизительно 220 мг, по меньшей мере приблизительно 240 мг, по меньшей мере приблизительно 260 мг, по меньшей мере приблизительно 280 мг, по меньшей мере приблизительно 300 мг, по меньшей мере приблизительно 320 мг, по меньшей мере приблизительно 340 мг, по меньшей мере приблизительно 360 мг, по меньшей мере приблизительно 380 мг, по меньшей мере приблизительно 400 мг, по меньшей мере приблизительно 420 мг, по меньшей мере приблизительно 440 мг, по меньшей мере приблизительно 460 мг, по меньшей мере приблизительно 480 мг, по меньшей мере приблизительно 500 мг или по меньшей мере приблизительно 550 мг.

E29. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E24, E27 и E28, в котором антитело к PD-1 вводят в постоянной дозе приблизительно один раз каждые 1, 2, 3 или 4 недели.

E30. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E29, в котором антитело к PD-1 вводят до тех пор, пока не будет наблюдаться клиническая польза или пока не возникнет неконтролируемая токсичность или прогрессирование заболевания.

E31. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E30, в котором антитело к CD30 вводят в дозе в диапазоне от по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг до по меньшей мере приблизительно 180 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 1, 2 или 3 недели.

E32. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E31, в котором антитело к CD30 вводят в дозе в диапазоне от по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг до по меньшей мере приблизительно 10 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 1, 2 или 3 недели.

E33. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E32, в котором антитело к CD30 вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 2 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 3 недели.

E34. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E32, в котором антитело к CD30 вводят в дозе 1,8 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 3 недели.

E35. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E34, в котором антитело к CD30 вводят до тех пор, пока не будет наблюдаться клиническая польза или пока не возникнет неконтролируемая токсичность или прогрессирование заболевания.

E36. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E35, в котором антитела к PD-1 и CD30 составлены для внутривенного введения.

E37. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E36, в котором антитела к PD-1 и CD30 вводят последовательно.

E38. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E37, в котором антитела к PD-1 и CD30 вводят с разницей в 30 минут друг от друга.

E39. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E38, в котором антитело к PD-1 вводят до введения антитела к CD30.

E40. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E39, в котором антитело к CD30 вводят до введения антитела к PD-1.

E41. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E36, в котором антитело к PD-1 и антитело к CD30 вводят одновременно в виде отдельных композиций.

E42. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E36, в котором антитело к PD-1 и антитело к CD30 смешивают в виде единой композиции для одновременного введения.

E43. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E42, в котором антитело к PD-1 вводят в субтерапевтической дозе.

E44. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E43, в котором антитело к CD30 вводят в субтерапевтической дозе.

E45. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E44, в котором каждое из антител к PD-1 и антитела к CD30 вводят в субтерапевтической дозе.

E46. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E45, в котором опухоль содержит одну или несколько клеток, которые экспрессируют PD-L1, PD-L2, или как одно, так и другое.

E47. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E46, в котором у субъекта наблюдается 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 начального введения.

E48. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E47, в котором антитело к CD30 представляет собой ADCETRIS®.

E49. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E48, в котором антитело к PD-1 представляет собой OPDIVO®.

E50. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E49, в котором субъект получал по меньшей мере одно предшествующее химиотерапевтическое лечение.

E51. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E50, в котором субъект получал по меньшей мере два вида предшествующего химиотерапевтического лечения.

E52. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E51, в котором у субъекта не наблюдался ответ на предшествующее химиотерапевтическое лечение.

E53. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E52, дополнительно предусматривающий применение у пациента трансплантации стволовых клеток после введения антитела к PD-1 и антитела к CD30.

E54. Способ согласно варианту осуществления E53, в котором трансплантация стволовых клеток предусматривает аутологичные стволовые клетки.

E55. Набор для лечения страдающего от рака субъекта, причем набор содержит: (а) дозировку антитела к PD-1 в диапазоне от приблизительно 4 мг до приблизительно 500 мг; (b) дозу антитела к CD30 в диапазоне от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 500 мг; и (с) инструкции по применению антитела к PD-1 и антитела к CD30 в способе согласно любому из вариантов осуществления E1-E54.

E56. Набор для лечения страдающего от лимфомы субъекта, причем набор содержит: (а) дозировку антитела к PD-1 в диапазоне от приблизительно 4 мг до приблизительно 500 мг; (b) дозу брентуксимаба ведотина в диапазоне от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 500 мг; и (с) инструкции по применению антитела к PD-1 и брентуксимаба ведотина в способе согласно любому из вариантов осуществления E1-E54.

E57. Способ согласно любому из вариантов осуществления E4-E54, в котором лимфома Ходжкина представляет собой рецидивную или рефрактерную лимфому Ходжкина.

E58. Способ согласно варианту осуществления E25, в котором антитело к PD-1 вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 3 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 3 недели.

E59. Способ согласно любому из вариантов осуществления E1-E24, в котором антитело к CD30 вводят субъекту в день 1 первого 21-дневного цикла, а антитело к PD-1 вводят субъекту в день 8 первого 21-дневного цикла.

Е60. Способ согласно варианту осуществления Е59, дополнительно предусматривающий введение комбинации антитела к CD30 и антитела к PD-1 в день 1 каждого из второго 21-дневного цикла, третьего 21-дневного цикла и четвертого 21-дневного цикла, где второй 21-дневный цикл, третий 21-дневный цикл и четвертый 21-дневный цикл следуют по порядку после первого 21-дневного цикла.

Е61. Способ согласно варианту осуществления Е59 или Е60, в котором антитело к CD30 вводят в дозе приблизительно 1,8 мг/кг.

Е62. Способ согласно любому из вариантов осуществления Е59-Е61, в котором антитело к PD-1 вводят в дозе приблизительно 3 мг/кг.

Е63. Способ согласно любому из вариантов осуществления Е59-Е62, в котором антитело к CD30, антитело к PD-1 или как антитело к CD30, так и антитело к PD-1 вводят субъекту внутривенно.

Е64. Способ согласно любому из вариантов осуществления Е59-Е63, в котором антитело к CD30 предусматривает брентуксимаб ведотин.

Е65. Способ согласно любому из вариантов осуществления Е59-Е64, в котором антитело к PD-1 предусматривает ниволумаб.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показано схематическое изображение сигнального пути с участием PD-1 и механизм действия ниволумаба. MHC = главный комплекс гистосовместимости; NFKB = ядерный фактор каппа В; PI3K = фосфоинозитид-3-киназа; Shp2 = содержащая домен гомологии Src тирозинфосфатаза 2.

На фиг. 2 показано схематическое изображение механизма действия брентуксимаба ведотина и вторичные эффекты.

На фиг. 3 показан дизайн исследования и курс лечения для клинического испытания брентуксимаба ведотина (BV) в комбинации с ниволумабом фазы I/II.

На фиг. 4 показан курс лечения для клинического испытания брентуксимаба ведотина (BV) в комбинации с ниволумабом фазы I/II.

На фиг. 5A и 5B показан ответ опухоли у пациентов, которых лечили брентуксимабом ведотином (BV) в комбинации с ниволумабом. CR означает полный ответ; PR означает частичный ответ; SD означает, что метаболический ответ отсутствует; и PD означает прогрессирование заболевания.

На фигурах 6A-6D показано примирование иммунной системы у пациентов, которых лечили брентуксимабом ведотином (BV) в комбинации с ниволумабом. Уровни TARС в сыворотке крови были значительно ниже по сравнению с исходным уровнем после введения BV в качестве монотерапевтического средства и после введения дозы BV и ниволумаба (фиг. 6A). Уровни Т-клеточного хемокина IP10 были значительно выше после введения дозы C1D1 BV и после введения дозы C1D8 ниволумаба (фиг. 6B). Уровни провоспалительного цитокина IL-18 были значительно выше после введения дозы C1D1 BV, и оставались стабильными при введении дозы BV и ниволумаба (фиг. 6C). Уровни провоспалительных цитокинов, таких как IFN γ , были значительно выше после введения дозы BV и ниволумаба (C1D15) по сравнению с исходным уровнем (фиг. 6D).

На фиг. 7A-7C показаны результаты иммунофенотипирования клеток периферической крови. Субпопуляции Т-хелперов, таких как Treg, (фиг. 7A), активированных CD4⁺ Т-клеток (фиг. 7B) и пролиферирующих CD4⁺ Т-клеток (фиг. 7C), которые уменьшались в количестве после введения дозы BV в качестве монотерапевтического средства, размножались после введения дозы комбинации BV и ниволумаба.

На фиг. 8 показаны нежелательные явления, ассоциированные с введением дозы BV и ниволумаба.

На фиг. 9 показаны инфузионные реакции (IRR), ассоциированные с введением дозы BV и ниволумаба.

На фиг. 10 показан дизайн исследования и курс лечения для клинического испытания брентуксимаба ведотина (BV) в комбинации с ниволумабом фазы III.

На фиг. 11 показано, что иммунизация BV-уничтоженными клетками лимфомы мыши A20 обеспечивает противоопухолевую защиту.

На фиг. 12A и 12B показано, что перенос Т-клеток от мышей, иммунизированных BV-уничтоженными клетками, обеспечивает защитный иммунитет.

На фиг. 13 показано улучшенное устранение опухоли и выживаемость, ассоциированные с комбинированной терапией BV и ниволумабом.

На фиг. 14A-14D показана инфильтрация иммунных клеток в аутологичные опухоли после применения комбинированной терапии BV и ниволумабом. Количества CD8⁺ Т-клеток и NK-клеток относительно опухолевой массы (фиг. 14A) и общее количество клеток (фиг. 14B) после введения дозы комбинации BV и ниволумаба увеличивались. CD8⁺ Т-клетки и опухолевые клетки LCL экспрессировали повышенные уровни PD-1 (фиг. 14C) и PD-L1 (фиг. 14D). TIL = инфильтрирующий опухоль лимфоцит; PVMC = моноклеарная клетка периферической крови.

На фиг. 15A-15B показано, что BV усиливает иммуноопосредованное устранение опухоли отдельно и в комбинации с ниволумабом. Относительный объем опухоли после обработки со временем уменьшался (фиг. 15A), и средний объем опухоли существенно уменьшался после обработки BV и ниволумабом в комбинации (фиг. 15B). BV = брентуксимаб ведотин; Nivo = ниволумаб; PVMC = моноклеарная клетка периферической крови; hIgG-MMAE = контроль.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Настоящее раскрытие относится к способам лечения опухоли у субъекта, предусматривающим введение субъекту антитела к белку-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) и антитела к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль происходит из лимфомы. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль происходит из лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы или их комбинации.

Термины.

Для того, чтобы настоящее раскрытие могло быть более понятным, сначала приводятся определенные термины. В контексте настоящего изобретения, если настоящим документом явно не предусмотрено иное, каждый из следующих терминов имеет значение, изложенное ниже. Дополнительные определения изложены по всему тексту изобретения.

Выражение "и/или" при применении в настоящем документе следует рассматривать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим или без него. Таким образом, подразумевается, что выражение "и/или" в контексте такой фразы, как "А и/или В" в настоящем документе включает "А и В", "А или В", "А" (отдельно) и "В" (отдельно). Подобным образом, подразумевается, что выражение "и/или" в контексте такой фразы, как "А, В и/или С", охватывает каждый из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно); и С (отдельно).

Следует понимать, что во всех случаях, где аспекты описаны в настоящем документе с использованием выражения "содержащий", другие аналогичные аспекты, описанные в контексте "состоящий из" и/или "состоящий главным образом из", также предусмотрены.

Если не указано иное, все применяемые в настоящем документе технические и научные термины имеют те же значения, которые обычно понятны рядовому специалисту в данной области, к которой относится настоящее раскрытие. Например, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2-е издание, 2002 г, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3-е издание, 1999 г, Academic Press; и Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, последняя редакция, 2000 г, Oxford University Press, предоставляют специалисту общий словарь множества применяемых в настоящем раскрытии терминов.

Единицы, префиксы и символы обозначены в их принятой согласно Международной системе единиц (СИ) форме. Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Предусмотренные в настоящем документе заголовки не являются ограничениями различных аспектов настоящего раскрытия, которые могут быть сделаны со ссылкой на описание в целом. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определены со ссылкой на описание во всей своей полноте.

"Введение" относится к физическому введению субъекту терапевтического средства с применением любого из ряда способов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Иллюстративные пути введения антитела к PD-1 включают внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, спинномозговой или другие парентеральные пути введения, например, путем инъекции или инфузии. Фраза "парентеральное введение" в контексте настоящего документа означает способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включает без ограничения внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрилимфатическую, внутриочаговую, интракапсулярную, интраорбитальную, интракардиальную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интрастернальную инъекцию и инфузию, а также *in vivo* электропорацию. Терапевтическое средство можно вводить путем, отличным от парентерального, или перорально. Другие отличные от парентерального пути включают местный, эпидермальный или мукозальный путь введения, например, интраназальный, вагинальный, ректальный, сублингвальный или местный. Введение также можно осуществлять, например, однократно, множество раз и/или в течение одного или нескольких длительных периодов.

"Нежелательное явление" (АЕ) в контексте настоящего документа представляет собой любой неблагоприятный и обычно непредусмотренный или неприемлемый признак (включая отклоняющиеся от нормы данные лабораторного исследования), симптом или заболевание, ассоциированные с применением медицинского вмешательства. Медицинское вмешательство может сопровождаться одним или несколькими ассоциированными АЕ, и при этом каждое АЕ может характеризоваться одинаковой или различной степенью тяжести. Отсылка к способам, с помощью которых можно "изменить нежелательные явления", означает схему лечения, которая обеспечивает снижение частоты возникновения и/или тяжести одного или нескольких АЕ, ассоциированных с применением другой схемы лечения.

"Антитело" (Ab) включает без ограничения являющийся гликопротеином иммуноглобулин, который специфически связывается с антигеном и содержит по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные друг с другом дисульфидными связями, или его антигенсвязывающую часть. Каждая H-цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (в настоящем документе сокращено как V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит по меньшей мере три константных домена, C_{H1}, C_{H2} и C_{H3}. Каждая легкая цепь содержит вариабельную область лег-

кой цепи (в настоящем документе сокращено как V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один константный домен, C_L -, V_H - и V_L -области дополнительно могут быть разделены на гипервариабельные области, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L содержит три CDR и четыре FR, расположенные, от аминоконца к карбокси-концу, в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Вариабельные области тяжелых и легких цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки), и первым компонентом (C1q) классической системы комплемента.

Имуноглобулин может относиться к любому из общеизвестных изотипов, включая без ограничения IgA, секреторные IgA, IgG и IgM. Подклассы IgG также хорошо известны специалистам в данной области и включают без ограничения IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека. "Изотип" относится к классу или подклассу антител (например, IgM или IgG1), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. Термин "антитело" включает, в качестве примера, как встречающиеся в природе, так и не встречающиеся в природе антитела; моноклональные и поликлональные антитела; химерные и гуманизированные антитела; человеческие или отличные от человеческих антитела; полностью синтетические антитела; и одноцепочечные антитела. Отличное от человеческого антитело может быть гуманизировано с помощью способов на основе технологии рекомбинантных ДНК с целью снижения его иммуногенности у человека. Если явным образом не указано, и если из контекста не следует иное, термин "антитело" также включает антигенсвязывающий фрагмент или антигенсвязывающую часть любого из вышеупомянутых иммуноглобулинов, и включает одновалентные и двухвалентные фрагмент или часть и одноцепочечное антитело.

"Выделенное антитело" относится к антителу, которое практически не содержит других антител с другими типами антигенной специфичности (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с PD-1, практически не содержит антител, которые специфически связываются с отличными от PD-1 антигенами). Выделенное антитело, которое специфически связывается с PD-1, может, однако, характеризоваться перекрестной реактивностью с другими антигенами, такими как молекулы PD-1 других видов. Более того, выделенное антитело может практически не содержать другого клеточного материала и/или химических веществ. Согласно одному варианту осуществления антитело относится к конъюгату с присоединенным другим средством (например, низкомолекулярным лекарственным средством). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к CD30 относится к конъюгату антитела к CD30 с низкомолекулярным лекарственным средством (например, MMAE).

Термин "моноклональное антитело" (mAb) относится к не встречающемуся в природе препарату молекул антител одного молекулярного состава, т.е. молекул антител, первичные последовательности которых являются практически идентичными, и которые характеризуются одной специфичностью связывания и аффинностью в отношении конкретного эпитопа. Моноклональное антитело является примером выделенного антитела. Моноклональные антитела можно получать с помощью гибридомной, рекомбинантной, трансгенной или других технологий, известных специалистам в данной области.

"Антитело человека" (HuMAb) относится к антителу, содержащему вариабельные области, в которых как FR, так и CDR происходят из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Кроме того, если антитело содержит константную область, то константная область также происходит из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Антитела человека по настоящему раскрытию могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека (например, в случае мутаций, введенных с применением случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или соматической мутации *in vivo*). Однако подразумевается, что в контексте настоящего документа термин "антитело человека" не включает антитела, в которых последовательности CDR, происходящие из зародышевой линии другого вида млекопитающих, например, мыши, были привиты на каркасные последовательности человека. Термины "антитела человека" и "полностью человеческие антитела" применяют как синонимы.

"Гуманизированное антитело" относится к антителу, в котором некоторые, большая часть или все из аминокислот вне CDR отличного от человеческого антитела замещены соответствующими аминокислотами, происходящими из иммуноглобулинов человека. Согласно одному варианту осуществления гуманизированной формы антитела некоторые, большая часть или все из аминокислот вне CDR были замещены аминокислотами из иммуноглобулинов человека, тогда как некоторые, большая часть или все из аминокислот в пределах одной или нескольких CDR остались неизменными. Допускаются небольшие добавления, делеции, вставки, замены или модификации аминокислот, при условии, что они не устраняют способность антитела связываться с конкретным антигеном. "Гуманизированное антитело" сохраняет антигенную специфичность, аналогичную таковой исходного антитела. Согласно некоторым вариантам осуществления CDR гуманизированного антитела предусматривают CDR из отличного от человеческого антитела млекопитающего. Согласно другим вариантам осуществления CDR гуманизированного антитела предусматривают CDR из сконструированного синтетического антитела.

"Химерное антитело" относится к антителу, в котором переменные области происходят из одного вида, а константные области происходят из другого вида, как, например, антитело, в котором переменные области происходят из антитела мыши, а константные области происходят из антитела человека.

"Антитело к антигену" относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном. Например, антитело к PD-1 специфически связывается с PD-1, а антитело к CD30 специфически связывается с CD30.

"Антигенсвязывающая часть" антитела (также называемая "антигенсвязывающим фрагментом") относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, связанным полным антителом.

"Рак" относится к широкой группе различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. "Рак" или "раковая ткань" могут включать опухоль. Неконтролируемое деление и рост клеток приводит к образованию злокачественных опухолей, которые проникают в соседние ткани и могут также давать метастазы в удаленные части организма через лимфатическую систему или кровяное русло. После метастазирования удаленные опухоли могут называться "происходящими из" пре-метастатической опухоли. Например, "опухоль, происходящая из" неходжкинской лимфомы относится к опухоли, которая является результатом метастазирования из неходжкинской лимфомы. Поскольку удаленная опухоль происходит из пре-метастатической опухоли, "опухоль, происходящая из" может также предусматривать пре-метастатическую опухоль, например, опухоль, происходящая из неходжкинской лимфомы, может предусматривать неходжкинскую лимфому.

"CD30" или "TNFRSF8" относится к рецептору, который является представителем суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли. CD30 представляет собой трансмембранный гликопротеин, экспрессируемый на поверхности активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и В-клеток и инфицированных вирусом лимфоцитов. CD30 взаимодействует с TRAF2 и TRAF3 для содействия сигнальной трансдукции, которая приводит к активации NF-κB. CD30 действует как положительный регулятор апоптоза, и было показано, что он ограничивает пролиферативный потенциал аутореактивных CD8 эффекторных Т-клеток. CD30 также экспрессируется при различных формах лимфомы, включая лимфому Ходжкина (CD30 экспрессируется клетками Рид-Штернберга) и неходжкинскую лимфому (например, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), периферическую Т-клеточную лимфому (PTCL) и кожную Т-клеточную лимфому (CTCL).

Термин "иммунотерапия" относится к лечению субъекта, страдающего от заболевания, подверженного риску развития или повторного проявления заболевания, с помощью способа, предусматривающего индуцирование, усиление, подавление или какое-либо другое модифицирование иммунного ответа.

"Лечение" или "терапия" субъекта относится к любому типу воздействия или процесса, осуществляемых по отношению к субъекту, или введению ему активного средства, с целью реверсии, ослабления, облегчения, ингибирования, замедления или предупреждения появления, прогрессирования, развития, тяжести или повторного проявления симптома, осложнения, состояния или биохимических показателей, ассоциированных с заболеванием.

"Белок-1 запрограммированной гибели клеток" (PD-1) относится к иммуоингибирующему рецептору, принадлежащему к семейству CD28. PD-1 экспрессируется преимущественно на поверхности прежде активированных Т-клеток *in vivo* и связывается с двумя лигандами, PD-L1 и PD-L2. Термин "PD-1" в контексте настоящего документа включает PD-1 человека (hPD-1), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-1 и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-1. Полную последовательность hPD-1 можно найти под номером доступа в GenBank U64863.

"Лиганд белка-1 запрограммированной гибели клеток" (PD-L1) является одним из двух лигандов PD-1, представляющих собой гликопротеины клеточной поверхности (другим является PD-L2), который осуществляет отрицательную регуляцию активации Т-клеток и секреции цитокинов после связывания с PD-1. Термин "PD-L1" в контексте настоящего документа включает PD-L1 человека (hPD-L1), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-L1 и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L1. Полную последовательность hPD-L1 можно найти под номером доступа в GenBank Q9NZQ7.

"Субъект" включает любое животное, являющееся человеком, или не являющееся человеком. Термин "животное, не являющееся человеком", включает без ограничения позвоночных, таких как отличные от человека приматы, овца, собаки и грызуны, такие как мыши, крысы и морские свинки. Согласно некоторым вариантам осуществления субъектом является человек. Термины "субъект" и "пациент" в настоящем документе применяются взаимозаменяемо.

"Терапевтически эффективное количество" или "терапевтически эффективная дозировка" лекарственного средства или терапевтического средства представляет собой любое количество лекарственного средства, которое, при применении отдельно или в комбинации с другим терапевтическим средством, обеспечивает защиту субъекта от проявления заболевания или способствует регрессии заболевания, о чем свидетельствует снижение тяжести симптомов заболевания, повышение частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания, или предупреждению ухудшения или утраты дееспособности вследствие поражения заболеванием. Способность терапевтического средства способствовать регрессии заболевания можно оценивать с применением ряда способов, известных практикующему специалисту,

например, у субъектов-людей в ходе клинических испытаний, в рамках систем с использованием модельных животных, с возможностью прогнозирования эффективности у людей, или с помощью анализа активности средства в *in vitro* анализах.

В контексте настоящего документа "субтерапевтическая доза" означает дозу терапевтического соединения (например, антитела), которая ниже обычной или типичной дозы терапевтического соединения при введении отдельно для лечения гиперпролиферативного заболевания (например, рака).

В качестве примера, "противораковое средство" способствует регрессии рака у субъекта. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтически эффективное количество лекарственного средства способствует регрессии рака до момента устранения рака. "Способствование регрессии рака" означает, что введение эффективного количества лекарственного средства, отдельно или в комбинации с противораковым средством, приводит к уменьшению темпа роста опухоли или размера, степени некроза опухоли, снижению тяжести по меньшей мере одного симптома заболевания, повышению частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания, предупреждению ухудшения или утраты дееспособности вследствие поражения заболеванием. Кроме того, термины "эффективный" и "эффективность" в отношении лечения включают как фармакологическую эффективность, так и физиологическую безопасность. Фармакологическая эффективность относится к способности лекарственного средства способствовать регрессии злокачественной опухоли у пациента. Физиологическая безопасность относится к уровню токсичности или других нежелательных физиологических эффектов на уровне клетки, органа и/или организма (нежелательные эффекты), обусловленных введением лекарственного средства.

В качестве примера лечения опухолей, терапевтически эффективное количество противоракового средства обеспечивает ингибирование роста клеток или роста опухоли по меньшей мере на приблизительно 10%, по меньшей мере на приблизительно 20%, по меньшей мере на приблизительно 30%, по меньшей мере на приблизительно 40%, по меньшей мере на приблизительно 50%, по меньшей мере на приблизительно 60%, по меньшей мере на приблизительно 70% или по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95% или по меньшей мере приблизительно 100% по сравнению с субъектами, не подлежащими лечению.

Согласно другим вариантам осуществления настоящего раскрытия регрессия опухоли может наблюдаться и продолжаться в течение периода, составляющего по меньшей мере приблизительно 20 дней, по меньшей мере приблизительно 30 дней, по меньшей мере приблизительно 40 дней, по меньшей мере приблизительно 50 дней или по меньшей мере приблизительно 60 дней. Несмотря на эти конечные измерения терапевтической эффективности оценка иммунотерапевтических препаратов также должна учитывать "паттерны иммунных ответов".

"Паттерн иммунных ответов" относится к паттерну клинических ответов, зачастую наблюдаемых у пациентов с раком, которых лечили иммунотерапевтическими средствами, обеспечивающими противоопухолевые эффекты посредством индукции специфических в отношении рака иммунных ответов или посредством модификации нативных иммунных процессов. Этот паттерн ответов характеризуется благоприятным терапевтическим эффектом, который следует за первичным увеличением опухолевой массы или появлением новых очагов, которые в рамках оценки традиционных химиотерапевтических средств классифицировались бы как прогрессирование заболевания, и они будут ассоциироваться с безуспешностью лекарственного средства. Соответственно, для достоверной оценки иммунотерапевтических средств может потребоваться длительный мониторинг эффектов таких средств в отношении целевого заболевания.

Терапевтически эффективное количество лекарственного средства включает "профилактически эффективное количество", которое представляет собой любое количество лекарственного средства, которое при введении отдельно или в комбинации с противораковым средством субъекту, подверженному риску развития рака (например, субъекту, у которого наблюдается предопухолевое состояние) или перенесения рецидива рака, обеспечивает ингибирование развития или повторного проявления рака. Согласно некоторым вариантам осуществления профилактически эффективное количество обеспечивает предупреждение развития или повторного проявления рака полностью. "Ингибирование" развития или повторного проявления рака означает либо уменьшение вероятности развития или повторного проявления рака, либо предупреждение развития или повторного проявления рака полностью.

Термин "доза, рассчитанная на вес", как изложено в настоящем документе, означает, что вводимую пациенту дозу рассчитывают на основе веса пациента. Например, если пациент с весом тела 60 кг нуждается в 3 мг/кг антитела к PD-1, можно рассчитать и применять соответствующее количество антитела к PD-1 (т.е. 180 мг) для введения.

Использование термина "фиксированная доза" по отношению к способу по настоящему раскрытию означает, что два или более разных антител в составе одной композиции (например, антитела к PD-1 и антитела к CD30) присутствуют в композиции при конкретных (фиксированных) соотношениях друг к другу. Согласно некоторым вариантам осуществления фиксированная доза рассчитана исходя из веса (например, мг) антител. Согласно определенным вариантам осуществления фиксированная доза рассчитана исходя из концентрации (например, мг/мл) антител. Согласно некоторым вариантам осуществления соотношение мг первого антитела (например, антитела к PD-1) и мг второго антитела (например, антите-

ла к CD30) составляет по меньшей мере приблизительно 1:1, приблизительно 1:2, приблизительно 1:3, приблизительно 1:4, приблизительно 1:5, приблизительно 1:6, приблизительно 1:7, приблизительно 1:8, приблизительно 1:9, приблизительно 1:10, приблизительно 1:15, приблизительно 1:20, приблизительно 1:30, приблизительно 1:40, приблизительно 1:50, приблизительно 1:60, приблизительно 1:70, приблизительно 1:80, приблизительно 1:90, приблизительно 1:100, приблизительно 1:120, приблизительно 1:140, приблизительно 1:160, приблизительно 1:180, приблизительно 1:200, приблизительно 200:1, приблизительно 180:1, приблизительно 160:1, приблизительно 140:1, приблизительно 120:1, приблизительно 100:1, приблизительно 90:1, приблизительно 80:1, приблизительно 70:1, приблизительно 60:1, приблизительно 50:1, приблизительно 40:1, приблизительно 30:1, приблизительно 20:1, приблизительно 15:1, приблизительно 10:1, приблизительно 9:1, приблизительно 8:1, приблизительно 7:1, приблизительно 6:1, приблизительно 5:1, приблизительно 4:1, приблизительно 3:1 или приблизительно 2:1. Например, соотношение антитела к PD-1 и антитела к CD30 3:1 может означать, что флакон может содержать приблизительно 240 мг антитела к PD-1 и 80 мг антитела к CD30 или приблизительно 3 мг/мл антитела к PD-1 и 1 мг/мл антитела к CD30.

Использование термина "постоянная доза" по отношению к способам и дозировкам по настоящему раскрытию означает дозу, которую вводят пациенту независимо от веса или площади поверхности тела (BSA) пациента. Постоянная доза, следовательно, не приводится в виде дозы в мг/кг, а скорее в виде абсолютного количества средства (например, антитела к CD30 и/или антитела к PD-1). Например, индивидуум весом 60 кг и индивидуум весом 100 кг будут получать одинаковую дозу антитела (например, 240 мг антитела к PD-1).

Следует понимать, что использование альтернативы (например, "или") означает либо одну, обе, либо любую комбинацию альтернатив. В контексте настоящего документа формы единственного числа следует понимать как относящиеся к "одному или нескольким" из любых указанных или перечисленных компонентов.

Термины "приблизительно" или "состоящий главным образом из" относятся к значению или композиции, которые находятся в приемлемом диапазоне погрешностей для конкретного значения или композиции, как определено специалистом в данной области, которые частично будут зависеть от того, каким образом измерится или определяется значение или композиция, т.е. ограничений системы измерений. Например, "приблизительно" или "состоящий главным образом из" может означать в пределах 1 или более 1 стандартного отклонения в соответствии с практикой в данной области. В качестве альтернативы, "приблизительно" или "состоящий главным образом из" может означать диапазон вплоть до 20%. Кроме того, особенно в отношении биологических систем или процессов, термины могут предусматривать разницу значения вплоть до порядка или вплоть до 5 раз. В случае, когда конкретные значения или композиции предусмотрены в изобретении и формуле изобретения, если не указано иное, значение "приблизительно" или "состоящий главным образом из" следует рассматривать как находящееся в пределах приемлемого диапазона погрешностей для такого конкретного значения или композиции.

Выражения "один раз приблизительно каждую неделю", "один раз приблизительно каждые две недели" или любые другие подобные выражения касательно интервалов времени между приемами дозы в контексте настоящего документа означают приближенные значения. "Один раз приблизительно каждую неделю" может включать каждые семь дней \pm один день, т.е. интервал времени от "каждые шесть дней" до "каждые восемь дней". "Один раз приблизительно каждые две недели" может включать каждые четырнадцать дней \pm три дня, т.е. интервал времени от "каждые одиннадцать дней" до "каждые семнадцать дней". Подобные приближения распространяются, например, на интервалы времени один раз приблизительно каждые три недели, один раз приблизительно каждые четыре недели, один раз приблизительно каждые пять недель, один раз приблизительно каждые шесть недель и один раз приблизительно каждые двенадцать недель. Согласно некоторым вариантам осуществления интервал времени между приемами дозы один раз приблизительно каждые шесть недель или один раз приблизительно каждые двенадцать недель означает, что первую дозу можно вводить в любой день первой недели, а затем следующую дозу можно вводить в любой день шестой или двенадцатой недели соответственно. Согласно другим вариантам осуществления интервал времени между приемами дозы один раз приблизительно каждые шесть недель или один раз приблизительно каждые двенадцать недель означает, что первую дозу вводят в конкретный день первой недели (например, понедельник), а затем следующую дозу вводят в тот же день шестой или двенадцатой недели (т.е. понедельник) соответственно.

Как описано в настоящем документе, любой диапазон концентраций, диапазон процентных значений, диапазон соотношений или диапазон целых чисел следует понимать как включающий значение любого целого числа в пределах указанного диапазона и, в соответствующих случаях, его дробные части (как, например, десятая и сотая часть целого числа), если не указано иное.

Различные описанные в настоящем раскрытии аспекты описываются более подробно в следующих подразделах.

Способы по настоящему раскрытию.

Настоящее раскрытие относится к способу лечения опухоли или субъекта, страдающего от опухоли,

предусматривающему введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с рецептором-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) и ингибируют активность PD-1 ("антитело к PD-1"), или антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с лигандом рецептора-1 запрограммированной гибели клеток (PD-L1) и ингибируют активность PD-L1 ("антитело к PD-L1"), и терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с CD30 ("антитело к CD30").

Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль происходит из лимфомы Ходжкина (HL), неходжкинской лимфомы (NHL) или их комбинации. Согласно определенным вариантам осуществления субъект получал один, два, три, четыре, пять или более предшествующих видов лечения рака. Согласно другим вариантам осуществления субъект не получал предшествующего лечения. Согласно некоторым вариантам осуществления у субъекта наблюдалось прогрессирование при других видах лечения рака. Согласно некоторым вариантам осуществления наблюдалось повторное появление опухоли. Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль является метастатической. Согласно другим вариантам осуществления опухоль не является метастатической.

Согласно определенным вариантам осуществления опухоль происходит из HL (например, опухоль, предусматривающая HL). Согласно определенным вариантам осуществления HL представляет собой классическую HL (сHL; например, нодулярную склерозирующую HL, смешанно-клеточную HL, HL с большим количеством лимфоцитов или HL с лимфоидным истощением). Согласно другим вариантам осуществления HL представляет собой нодулярный тип HL с лимфоидным преобладанием.

Согласно другим вариантам осуществления опухоль происходит из NHL. Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль предусматривает NHL. Согласно определенным вариантам осуществления NHL представляет собой рецидивную или рефрактерную NHL. Согласно некоторым вариантам осуществления NHL представляет собой В-клеточную лимфому, например, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), фолликулярную лимфому (FL), лимфому Беркитта, иммунобластную крупноклеточную лимфому, В-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников, лимфому из клеток маргинальной зоны или любую их комбинацию. Согласно некоторым вариантам осуществления NHL представляет собой Т-клеточную лимфому, например, кожную Т-клеточную лимфому (CTCL), периферическую Т-клеточную лимфому (PTCL), фунгоидный микоз, анапластическую крупноклеточную лимфому, Т-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников или любую их комбинацию. Согласно определенным вариантам осуществления NHL выбрана из DLBCL, PTCL, CTCL и любой их комбинации.

Согласно другим вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение эффективного количества антитела к PD-1 и эффективного количества антитела к CD30. Эффективное количество антитела к PD-1 и/или антитела к CD30 может представлять собой постоянную дозу или дозу, рассчитанную на вес.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее раскрытие включает способ лечения рака или страдающего от рака субъекта, предусматривающий введение антагониста PD-1 в комбинации с антителом к CD30 для лечения рака. "Антагонист PD-1", как изложено в настоящем документе, включает любую молекулу, которая ингибирует взаимодействие между PD-1 (рецептор) и PD-L1 (лиганд), за счет чего происходит блокирование сигнального пути с участием PD-1/PD-L1. Согласно другим вариантам осуществления антагонист PD-1 представляет собой слитый белок PD-1-Fc. Согласно определенным вариантам осуществления антагонист PD-1 включает связывающийся с PD-1 слитый белок, бессмысловую молекулу, малую молекулу, рибозим или наноантитело, которые ингибируют или предотвращают взаимодействие между PD-1 и PD-L1.

Согласно определенным вариантам осуществления терапия по настоящему раскрытию (например, введение антитела к PD-1 и антитела к CD30) обеспечивает эффективное увеличение продолжительности выживания субъекта. Например, продолжительность выживания субъекта увеличивается по меньшей мере на приблизительно 1 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 или по меньшей мере приблизительно 1 год или более по сравнению с таковой у другого субъекта, подлежащего лечению с использованием либо другой терапии, либо только одного из двух компонентов комбинированной терапии отдельно (например, антитела к PD-1 отдельно) или альтернативной комбинированной терапии. Согласно другим вариантам осуществления комбинированная терапия с использованием антитела к PD-1 и антитела к CD30 обеспечивает увеличение продолжительности выживания субъекта на уровне, аналогичном продолжительности выживания субъекта с помощью комбинированной терапии с использованием антитела к PD-L1 и брентуксимаба ведотина (антитело к CD30). Согласно еще одним вариантам осуществления комбинированная терапия с использованием антитела к PD-1 (например, ниволамаба или пембролизумаба) и антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина) обеспечивает увеличение продолжительности выживания субъекта на уровне, превышающем (превышающем на приблизительно один месяц, пре-

вышающем на приблизительно два месяца, превышающем на приблизительно три месяца, превышающем на приблизительно четыре месяца, превышающем на приблизительно пять месяцев, превышающем на приблизительно шесть месяцев, превышающем на приблизительно семь месяцев, превышающем на приблизительно восемь месяцев, превышающем на приблизительно девять месяцев, превышающем на приблизительно десять месяцев, превышающем на приблизительно одиннадцать месяцев или превышающем на приблизительно один год) продолжительность выживания субъекта с помощью комбинированной терапии с использованием антитела к PD-L1 (например, MPDL3280A или атезолизумаба) и брентуксимаба ведотина (антитело к CD30).

Согласно определенным вариантам осуществления терапия по настоящему раскрытию обеспечивает эффективное увеличение продолжительности выживания субъекта без прогрессирования. Например, продолжительность выживания субъекта без прогрессирования увеличивается по меньшей мере на приблизительно 1 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 или по меньшей мере приблизительно 1 год по сравнению с таковой у другого субъекта, подлежащего лечению с использованием либо другой терапии, либо только одного из двух компонентов комбинированной терапии отдельно (например, антитела к PD-1 отдельно) или альтернативной комбинированной терапии.

Согласно определенным вариантам осуществления терапия по настоящему раскрытию обеспечивает эффективное увеличение частоты ответа в группе субъектов. Например, частота ответа в группе субъектов увеличивается по меньшей мере на приблизительно 2%, по меньшей мере приблизительно 3%, по меньшей мере приблизительно 4%, по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 45%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 99% или по меньшей мере приблизительно 100% по сравнению с другой группой субъектов, подлежащих лечению с использованием либо другой терапии, либо только одного из двух компонентов комбинированной терапии отдельно (например, антитела к PD-1 отдельно) или альтернативной комбинированной терапии.

Согласно определенным вариантам осуществления с помощью способов по настоящему раскрытию снижают уровень регулируемого тимусом и активацией хемокина (TARC) в сыворотке крови у субъекта после введения антитела к PD-1 и антитела к CD30 в комбинации, по сравнению с исходным уровнем TARC в сыворотке крови (без введения или до введения) или после введения антитела к PD-1 или антитела к CD30 отдельно (монотерапия). Согласно некоторым вариантам осуществления после введения уровня TARC в сыворотке крови снижается по меньшей мере в один раз, по меньшей мере в 1,5 раза, по меньшей мере в два раза, по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза, по меньшей мере в пять раз, по меньшей мере в шесть раз, по меньшей мере в семь раз, по меньшей мере в восемь раз, по меньшей мере в девять раз, по меньшей мере в десять раз, по меньшей мере в 11 раз, по меньшей мере в 12 раз, по меньшей мере в 13 раз, по меньшей мере в 14 раз, по меньшей мере в 15 раз, по меньшей мере в 16 раз, по меньшей мере в 17 раз, по меньшей мере в 18 раз, по меньшей мере в 19 раз или по меньшей мере в 20 раз по сравнению с исходным уровнем TARC в сыворотке крови (без введения или до введения) или после монотерапии. Согласно другим вариантам осуществления с помощью способов по настоящему раскрытию повышают уровень провоспалительного цитокина, например, интерлейкина-18 (IL-18) и/или интерферона- γ , у субъекта после введения антитела к PD-1 и антитела к CD30 в комбинации, по сравнению с исходным уровнем провоспалительного цитокина (без введения или до введения) или после введения антитела к PD-1 или антитела к CD30 отдельно (монотерапия). Уровень провоспалительного цитокина может повышаться по меньшей мере в 1 раз, по меньшей мере в 1,5 раза, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 3 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 6 раз, по меньшей мере в 7 раз, по меньшей мере в 8 раз, по меньшей мере в 9 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 11 раз, по меньшей мере в 12 раз, по меньшей мере в 13 раз, по меньшей мере в 14 раз, по меньшей мере в 15 раз, по меньшей мере в 16 раз, по меньшей мере в 17 раз, по меньшей мере в 18 раз, по меньшей мере в 19 раз или по меньшей мере в 20 раз после применения комбинированной терапии. Согласно еще одним вариантам осуществления с помощью способов по настоящему раскрытию повышают уровень Т-клеточного хемокина, например, IP10, у субъекта после введения антитела к PD-1 и антитела к CD30 в комбинации, по сравнению с исходным уровнем Т-клеточного хемокина (без введения или до введения) или после введения антитела к PD-1 или антитела к CD30 отдельно (монотерапия). Согласно некоторым вариантам осуществления уровень Т-клеточного хемокина повышается по меньшей мере в 1 раз, по меньшей мере в 1,5 раза, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 3 раза, по мень-

шей мере в 5 раз, по меньшей мере в 6 раз, по меньшей мере в 7 раз, по меньшей мере в 8 раз, по меньшей мере в 9 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 11 раз, по меньшей мере в 12 раз, по меньшей мере в 13 раз, по меньшей мере в 14 раз, по меньшей мере в 15 раз, по меньшей мере в 16 раз, по меньшей мере в 17 раз, по меньшей мере в 18 раз, по меньшей мере в 19 раз или по меньшей мере в 20 раз после применения комбинированной терапии.

Согласно другим вариантам осуществления способ по настоящему изобретению относится к способу снижения уровня TARC в сыворотке крови у субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из лимфомы Ходжкина (HL), неходжкинской лимфомы (NHL) или их комбинации, предусматривающему введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 и антитела к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления после введения уровень TARC в сыворотке крови снижается по меньшей мере в один раз, по меньшей мере в 1,5 раза, по меньшей мере в два раза, по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза, по меньшей мере в пять раз, по меньшей мере в шесть раз, по меньшей мере в семь раз, по меньшей мере в восемь раз, по меньшей мере в девять раз, по меньшей мере в десять раз, по меньшей мере в 11 раз, по меньшей мере в 12 раз, по меньшей мере в 13 раз, по меньшей мере в 14 раз, по меньшей мере в 15 раз, по меньшей мере в 16 раз, по меньшей мере в 17 раз, по меньшей мере в 18 раз, по меньшей мере в 19 раз или по меньшей мере в 20 раз по сравнению с исходным уровнем TARC в сыворотке крови (без введения или до введения) или после монотерапии.

Согласно некоторым вариантам осуществления способ по настоящему изобретению относится к способу повышения уровня провоспалительного цитокина (например, IL-18 и/или IFN γ) и/или Т-клеточного хемокина (например, IP10) у субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из лимфомы Ходжкина (HL), неходжкинской лимфомы (NHL) или их комбинации, предусматривающему введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 и антитела к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления уровень провоспалительного цитокина и/или Т-клеточного хемокина повышается по меньшей мере в 1 раз, по меньшей мере в 1,5 раза, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 3 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 6 раз, по меньшей мере в 7 раз, по меньшей мере в 8 раз, по меньшей мере в 9 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 11 раз, по меньшей мере в 12 раз, по меньшей мере в 13 раз, по меньшей мере в 14 раз, по меньшей мере в 15 раз, по меньшей мере в 16 раз, по меньшей мере в 17 раз, по меньшей мере в 18 раз, по меньшей мере в 19 раз или по меньшей мере в 20 раз после применения комбинированной терапии.

Согласно определенным вариантам осуществления с помощью способов по настоящему изобретению (например, комбинированной терапии с использованием антитела к PD-1 и антитела к CD30) также обеспечивают активацию и/или пролиферацию Т-клеток, например, CD4⁺ Т-клеток, например, фолликулярных хелперных CD4 Т-клеток (Tfh), хелперных Т-клеток (Th1 и/или Th2), хелперных Т-клеток 17 (T17) и/или регуляторных Т-клеток (Treg) или CD8⁺ Т-клеток, по сравнению с введением антитела к CD30 отдельно или исходным уровнем (без введения или до введения). Согласно некоторым вариантам осуществления с помощью способов по настоящему изобретению повышают число Т-клеток, например, CD4⁺ Т-клеток, регуляторных Т-клеток (Treg), по сравнению с введением антитела к CD30 отдельно или исходным уровнем (без введения или до введения).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 и CD30 составляют для внутривенного введения. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 и CD30 вводят последовательно. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 и CD30 вводят с разницей в 30 минут друг от друга. Согласно одному варианту осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающую часть вводят до введения антитела к CD30 или его антигенсвязывающей части. Согласно другому варианту осуществления антитело к CD30 или его антигенсвязывающую часть вводят до введения антитела к PD-1 или его антигенсвязывающей части. Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающую часть и антитело к CD30 или его антигенсвязывающую часть вводят одновременно в виде отдельных композиций. Согласно дополнительному варианту осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающую часть и антитело к CD30 или его антигенсвязывающую часть смешивают в виде единой композиции для одновременного введения.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 и антитело к CD30 вводят в фиксированной дозе.

Антитела к PD-1 и PD-L1.

При комбинированной терапии по настоящему раскрытию могут быть использованы антитело к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент. PD-1 является ключевым рецептором, представляющим собой контрольную точку иммунного ответа, экспрессируемым активированными Т- и В-клетками, и он опосредует супрессию иммунного ответа. PD-1 является представителем семейства рецепторов CD28, которое включает CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1 и BTLA. Было идентифицировано два лиганда PD-1, представляющие собой гликопротеины клеточной поверхности, лиганд белка-1 запрограммированной гибели клеток (PD-L1) и лиганд белка-2 запрограммированной гибели клеток (PD-L2), которые экспрессируются на поверхности антиген-представляющих клеток, а также при множестве форм рака человека, и было показано, что они осуществляют отрицательную регуляцию активации Т-клеток и секреции цитокинов после связывания с PD-1. Ингибирование взаимодействия PD-1/PD-L1 содействует сильной противоопу-

холевой активности в доклинических моделях.

Моноклональные антитела человека, которые специфически связываются с PD-1 с высокой аффинностью, были раскрыты в патенте США № 8008449. Другие mAB к PD-1 были описаны, например, в патентах США №№ 6808710, 7488802, 8168757 и 8354509 и публикации согласно РСТ № WO 2012/145493. Было продемонстрировано, что каждое из раскрытых в патенте США № 8008449 моноклональных антител человека к PD-1 проявляет одну или несколько из следующих характеристик: (а) связывается с PD-1 человека с K_D 1×10^{-7} М или меньше, как определено с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса с применением биосенсорной системы Biacore; (b) практически не связывается с CD28, CTLA-4 или ICOS человека; (c) повышает степень пролиферации Т-клеток в анализе на основе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR); (d) повышает продукцию интерферона- γ в MLR-анализе; (e) повышает степень секреции IL-2 в MLR-анализе; (f) связывается с PD-1 человека и PD-1 яванского макака; (g) ингибирует связывание PD-L1 и/или PD-L2 с PD-1; (h) стимулирует антигенспецифические вторичные иммунные ответы; (i) стимулирует гуморальные иммунные ответы; и/или (j) ингибирует рост опухолевых клеток *in vivo*. Используемые в настоящем раскрытии антитела к PD-1 включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и проявляют по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять из упомянутых выше характеристик.

Согласно одному варианту осуществления антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб (также известный как "OPDIVO®"; ранее обозначаемый как 5C4, BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538) представляет собой ингибитор контрольной точки иммунного ответа PD-1 в виде полностью человеческого IgG4-антитела (S228P), которое избирательно предотвращает взаимодействие с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), тем самым блокируя подавление противоопухолевых функций Т-клеток (патент США №8008449; Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56). Ниволумаб характеризовался активностью при различных запущенных солидных опухолях, включая почечно-клеточную карциному (аденокарциному почки или гипернефрому), меланому и немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) (Toralian et al., 2012a; Toralian et al., 2014; Drake et al., 2013; WO 2013/173223). Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурируют с ниволумабом. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и ниволумаб.

Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 (или его антигенсвязывающая часть) перекрестно конкурирует с пембролизумабом. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и пембролизумаб. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и пембролизумаб. Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб (также известный как "KEYTRUDA®", ламбролизумаб и МК-3475) представляет собой гуманизованное моноклональное IgG4-антитело, направленное против рецептора клеточной поверхности PD-1 человека (рецептор-1 запрограммированной гибели клеток или рецептор-1 запрограммированной гибели). Пембролизумаб описан, например, в патенте США № 8900587; см. также <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789> (последний доступ: 14 декабря 2014 года). Пембролизумаб был одобрен FDA для лечения рецидивной или рефрактерной меланомы и запущенной NSCLC.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 (или его антигенсвязывающая часть) перекрестно конкурирует с MEDI0680. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и MEDI0680. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и MEDI0680. Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой MEDI0680 (ранее известное как AMP-514), которое представляет собой моноклональное антитело к рецептору PD-1. MEDI0680 описано, например, в патенте США № 8609089B2 или на сайте по адресу <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047> (последний доступ 14 декабря 2014 года).

Согласно определенным вариантам осуществления ингибитором контрольной точки иммунного ответа является AMP-224, который представляет собой слитый белок на основе B7-DC и Fc. AMP-224 обсуждается в публикации США №2013/0017199 или на сайте по адресу:

<http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=700595> (последний доступ 8 июля 2015 года).

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 (или его антигенсвязывающая часть) перекрестно конкурирует с BGB-A317. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и BGB-A317. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и BGB-A317. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317, которое является гуманизованным моноклональным антителом. BGB-A317 описано в публикации США № 2015/0079109.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 (или его антигенсвязывающая часть) перекрестно конкурирует с INCSHR1210 (SHR-1210). Согласно некоторым вариантам осуществления

антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и INC5HR1210 (SHR-1210). Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и INC5HR1210 (SHR-1210). Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой INC5HR1210 (SHR-1210), которое является моноклональным антителом человека. INC5HR1210 (SHR-1210) описано в WO2015/085847.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 (или его антигенсвязывающая часть) перекрестно конкурирует с REGN-2810. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и REGN-2810. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и REGN-2810. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой REGN-2810, которое является моноклональным антителом человека. REGN-2810 описано в WO2015/112800.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 (или его антигенсвязывающая часть) перекрестно конкурирует с PDR001. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и PDR001. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и PDR001. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой PDR001, которое является гуманизированным моноклональным антителом. PDR001 описано в WO2015/112900.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 (или его антигенсвязывающая часть) перекрестно конкурирует с TSR-042 (ANB011). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и TSR-042 (ANB011). Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и TSR-042 (ANB011). Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой TSR-042 (ANB011), которое является гуманизированным моноклональным антителом. TSR-042 (ANB011) описано в WO2014/179664.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 (или его антигенсвязывающая часть) перекрестно конкурирует с STI-1110. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и STI-1110. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит те же CDR, что и STI-1110. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой STI-1110, которое является моноклональным антителом человека. STI-1110 описано в WO2014/194302.

Используемые в раскрытых способах антитела к PD-1 также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и перекрестно конкурируют с ниволумабом за связывание с PD-1 человека (см., например, патент США № 8008449; WO 2013/173223). Способность антител к перекрестному конкурированию за связывание с антигеном указывает на то, что такие антитела связываются с той же соответствующей эпитопу областью антигена и способствуют пространственному затруднению связывания других перекрестно конкурирующих антител с такой конкретной соответствующей эпитопу областью. Ожидается, что такие перекрестно конкурирующие антитела обладают функциональными свойствами, очень похожими с таковыми у ниволумаба, благодаря их связыванию с той же соответствующей эпитопу областью PD-1. Перекрестно конкурирующие антитела можно легко идентифицировать на основе их способности к перекрестному конкурированию с ниволумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Biacore, ELISA-анализы или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют с ниволумабом за связывание с PD-1 человека, или связываются с той же соответствующей эпитопу областью PD-1 человека, что и ниволумаб, являются моноклональными антителами. Для введения субъектам людям такие перекрестно конкурирующие антитела могут представлять собой химерные антитела или могут представлять собой гуманизированные антитела или антитела человека. Такие химерные, гуманизированные или моноклональные антитела человека можно получать и выделять с помощью хорошо известных в данной области способов.

Используемые в способах по настоящему раскрытию антитела к PD-1 также включают антигенсвязывающие части описанных выше антител. Было подробно продемонстрировано, что функция антитела, заключающаяся в связывании антигена, может осуществляться фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином "антигенсвязывающая часть" антитела, включают (i) Fab-фрагмент, одновалентный фрагмент, состоящий из V_L -, V_H -, C_L - и C_{H1} -доменов; (ii) F(ab')₂-фрагмент, бивалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) Fd-фрагмент, состоящий из V_H - и C_{H1} -доменов; (iv) Fv-фрагмент, состоящий из V_L - и V_H -доменов одного плеча антитела, или любую их комбинацию.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть содержат константную область тяжелой цепи, которая происходит из изотипа IgG1 или IgG4 человека. Согласно определенным другим вариантам осуществления последовательность константной области тяжелой цепи IgG4 антитела к PD-1 или его антигенсвязывающей части предусматривает мутацию S228P, которая обуславливает замещение серинового остатка шарнирной области пролиновым остатком, обычно находящимся в соответствующем положении антител изотипа IgG1. Эта мутация, которая при-

сутствует в ниволумабе, предотвращает обмен Fab-плеч с эндогенными IgG4-антителами, сохраняя при этом низкую аффинность в отношении активирующих Fc-рецепторов, ассоциированных с IgG4-антителами дикого типа (Wang et al., 2014). Согласно еще одним вариантам осуществления антитело содержит константную область легкой цепи, которая представляет собой константную область каппа- или лямбда-цепи человека. Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляют собой моноклональное антитело или его антигенсвязывающую часть. Согласно определенным вариантам осуществления любого из описанных в настоящем документе способов терапии, предусматривающих введение антитела к PD-1, антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб. Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 выбрано из антител человека 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 и 5F4, описанных в патенте США № 8008449. Согласно еще одним вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой MEDI0680 (ранее известное как AMP-514), AMP-224 или BGB-A317.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляют собой химерное, гуманизированное или моноклональное антитело человека или его часть. Согласно определенным вариантам осуществления лечения субъекта-человека антитело представляет собой гуманизированное антитело. Согласно другим вариантам осуществления лечения субъекта-человека антитело представляет собой антитело человека. Можно применять антитела изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

Согласно определенным вариантам осуществления применяемое в способах антитело к PD-1 можно заменить другим антагонистом PD-1 или PD-L1. Например, поскольку антитело к PD-L1 предотвращает взаимодействие между PD-1 и PD-L1, тем самым проявляя аналогичные эффекты в отношении сигнального пути с участием PD-1, антитело к PD-L1 может заменить применение антитела к PD-1 в раскрытых в настоящем документе способах. Следовательно, согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к способу лечения субъекта, страдающего от опухоли, предусматривающему введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к PD-L1 и антитела к CD30.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-L1 представляет собой BMS-936559 (ранее известное как 12A4 или MDX-1105) (см., например, патент США № 7943743; WO 2013/173223).

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MPDL3280A (также известное как RG7446 и атезолизумаб) (см., например, Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl) 3000. Abstract.; патент США № 8217149).

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MEDI4736 (также называемое дурвалумабом; Khleif (2013) в протоколах Европейского онкологического конгресса 2013 года; с 27 сентября по 1 октября 2013 года; Амстердам, Нидерланды. Реферат 802, см. патент США № 8779108 или US 2014/0356353, поданную 6 мая 2014 года).

Согласно дополнительным вариантам осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MSB0010718C (также называемое авелумабом; см. US 2014/0341917).

Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-L1 представляет собой CX-072 (также называемое СyтомX; см. WO2016/149201).

Согласно определенным вариантам осуществления антитела к PD-L1 перекрестно конкурируют с вышеупомянутыми антителами к PD-L1 за связывание с PD-L1 человека, или связываются с той же соответствующей эпитопу областью PD-L1 человека, что и вышеупомянутые антитела к PD-L1. Согласно другим вариантам осуществления антитела к PD-L1, применимые для комбинированной терапии антителом к CD30, являются моноклональными антителами. Для введения субъектам-людям такие перекрестно конкурирующие антитела могут представлять собой химерные антитела или могут представлять собой гуманизированные антитела или антитела человека. Такие химерные, гуманизированные или моноклональные антитела человека можно получать и выделять с помощью хорошо известных в данной области способов.

Антитела к CD30.

При комбинированной терапии по настоящему раскрытию также используют антитело к CD30 или его антигенсвязывающий фрагмент. Рецепторы CD30 являются представителями суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли, вовлеченных в ограничение пролиферативного потенциала аутореактивных CD8 эффекторных Т-клеток. Направленные на CD30 антитела потенциально могут быть либо агонистами, либо антагонистами таких видов активности CD30.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к CD30 представляет собой сAC10. сAC10 представляет собой химерное моноклональное IgG1-антитело, которое специфически связывает CD30. сAC10 индуцирует задержку пролиферации CD30⁺ клеточных линий *in vitro* и обладает выраженной противоопухолевой активностью в ксенотрансплантатных моделях болезни Ходжкина у мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (SCID). См. Francisco et al., Blood 102(4): 1458-64 (2003).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к CD30 конъюгировано с терапевтическим средством, например, антитело к CD30 предусматривает конъюгат антитела к CD30 и лекарственного

средства. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтическое средство предусматривает антинеопластическое средство (например, антимиотическое средство). Согласно определенным вариантам осуществления терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из монометила ауристатиона Е (ММАЕ), аналогов лекарственных средств на основе ауристатиона, майтансиноидов (майтансин; DM), доластатинов, криптофицина, дуокармицина, производных дуокармицина, эсперамицина, калихеамицина, пирролобензодиазепина (PBD) и любой их комбинации. Согласно одному конкретному варианту осуществления антитело к CD30 конъюгировано с ММАЕ. Антитело может быть конъюгировано по меньшей мере с одним, по меньшей мере с двумя, по меньшей мере с тремя, по меньшей мере с четырьмя, по меньшей мере с пятью, по меньшей мере с шестью, по меньшей мере с семью, по меньшей мере с восемью, по меньшей мере с девятью или по меньшей мере с десятью молекулами терапевтического средства. Согласно одному варианту осуществления антитело к CD30 конъюгировано с четырьмя молекулами терапевтического средства, например, четырьмя молекулами ММАЕ.

Согласно некоторым вариантам осуществления конъюгат антитела к CD30 и лекарственного средства дополнительно содержит линкер между терапевтическим средством и антителом. Согласно некоторым вариантам осуществления линкер содержит одну или несколько встречающихся в природе (например, синтетических) аминокислот, одну или несколько не встречающихся в природе (например, синтетических) аминокислот, представляет собой химический линкер или предусматривает любую их комбинацию. Согласно определенным вариантам осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер, например, расщепляемый протеазой линкер. Согласно определенным вариантам осуществления линкер специфически расщепляется после поглощения целевой клеткой, например, после поглощения экспрессирующей CD30 клеткой. Согласно некоторым вариантам осуществления расщепление линкера активирует цитотоксическую активность терапевтического средства.

Согласно одному варианту осуществления антитело к CD30 содержит брентуксимаб ведотин. Согласно одному конкретному варианту осуществления антитело к CD30 представляет собой брентуксимаб ведотин. Брентуксимаб ведотин (BV; также известный как "ADCETRIS®") представляет собой конъюгат CD30-направленного антитела и лекарственного средства (ADC), содержащий химерное антитело к CD30 (сAC10), терапевтическое средство (ММАЕ) и расщепляемый протеазой линкер между сAC10 и ММАЕ. BV содержит примерно четыре молекулы ММАЕ, каждая из которых соединена с молекулой антитела сAC10. Согласно одному варианту осуществления антитело к CD30 представляет собой ADCETRIS®. ADCETRIS® одобрено FDA для лечения пациентов с лимфомой Ходжкина после безуспешной аутологичной трансплантации стволовых клеток (ASCT) или после безуспешных по меньшей мере двух предшествующих схем многокомпонентной химиотерапии у пациентов, не являющихся кандидатами на ASCT, и для лечения пациентов с системной анапластической крупноклеточной лимфомой после безуспешной по меньшей мере одной предшествующей схемы многокомпонентной химиотерапии.

Согласно одному варианту осуществления антитело к CD30 представляет собой антитело к CD30 или его фрагмент, которые связываются с тем же эпитопом, что и сAC10, например, тем же эпитопом, что и брентуксимаб ведотин. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к CD30 представляет собой антитело, которое содержит те же CDR, что и сAC10, например, те же CDR, что и брентуксимаб ведотин. Ожидается, что антитела, которые связываются с одним и тем же эпитопом, обладают функциональными свойствами, очень похожими с таковыми у сAC10, благодаря их связыванию с той же соответствующей эпитопу областью CD30. Такие антитела можно легко идентифицировать на основе их способности, например, к перекрестному конкурированию с сAC10 в стандартных анализах связывания CD30, таких как анализ Вiascore, ELISA-анализы или проточная цитометрия.

Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют с ниволумабом за связывание с CD30 человека, или связываются с той же соответствующей эпитопу областью CD30 человека, что и сAC10, являются моноклональными антителами. Для введения субъектам людям такие перекрестно конкурирующие антитела могут представлять собой химерные антитела или могут представлять собой гуманизированные антитела или антитела человека. Такие химерные, гуманизированные или моноклональные антитела человека можно получать и выделять с помощью хорошо известных в данной области способов. Используемые в способах по настоящему раскрытию антитела к CD30 также включают антигенсвязывающие части описанных выше антител.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к CD30 или его антигенсвязывающая часть представляют собой химерное, гуманизированное или моноклональное антитело человека или его часть. Согласно определенным вариантам осуществления лечения субъекта-человека антитело представляет собой гуманизированное антитело. Согласно другим вариантам осуществления лечения субъекта-человека антитело представляет собой антитело человека. Можно применять антитела изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

Рак и виды стандартной терапии.

Согласно некоторым вариантам осуществления раскрытые в настоящем документе способы применяют вместо видов стандартной терапии. Согласно определенным вариантам осуществления стандартную терапию применяют в комбинации с любым раскрытым в настоящем документе способом. Виды

стандартной терапии различных типов рака хорошо известны специалистам в данной области. Например, Национальная комплексная онкологическая сеть США (National Comprehensive Cancer Network, NCCN), объединение 21 основных онкологических центров в США, опубликовала руководство по клинической практике в онкологии NCCN (NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, NCCN GUIDELINES®), в котором представлены подробные новейшие данные по видам стандартного лечения самых различных форм рака (см. NCCN GUIDELINES®, 2014 года, доступно по адресу:

www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp, последний доступ 14 мая 2014 года).

Лимфома.

Комбинированную терапию по настоящему раскрытию можно применять для лечения опухоли, происходящей из лимфомы. Лимфома является формой рака, которая поражает иммунную систему. Большинство форм лимфомы относятся к двум категориям: лимфома Ходжкина (HL) и неходжкинская лимфома (NHL). NHL является наиболее распространенной формой лимфомы, составляя приблизительно 90% всех случаев лимфомы, тогда как HL составляет лишь приблизительно 10% всех случаев лимфомы. Соответственно, согласно некоторым вариантам осуществления лимфома представляет собой HL. Согласно другим вариантам осуществления лимфома представляет собой NHL.

По оценкам, NHL будет составлять 72000 новых случаев (4,3% от всех новых случаев рака) и 20000 случаев смерти (3,4% от всех связанных с раком случаев смерти) в США в 2017 году. Howlader N et al., SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014, на основе предоставленных в ноябре 2016 года данных SEER. Диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL), наиболее распространенный подтип NHL, характеризуется коэффициентом заболеваемости 7,14 на 100000 индивидуумов в год (P-Y), включая до 10% случаев первичной медиастинальной В-клеточной лимфомы (PMBL). Dunleavy K et al., Blood 2015;125:33-39. Коэффициенты заболеваемости для периферической Т-клеточной лимфомы (PTCL) и фунгоидного микоза/синдрома Сезари (MF/SS) составляют 0,60 и 0,52 на 100000 P-Y. Morton LM et al., Blood 2006; 107:265-276. В пределах двух основных категорий лимфомы, HL и NHL, имеют место несколько специфических подгрупп форм лимфомы. Формы лимфомы Ходжкина могут включать без ограничения классическую HL (сHL; например, нодулярную склерозирующую HL, смешанно-клеточную HL, HL с большим количеством лимфоцитов и HL с лимфоидным истощением) и нодулярный тип HL с лимфоидным преобладанием. Формы неходжкинской лимфомы могут включать без ограничения В-клеточные формы лимфомы (например, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), фолликулярную лимфому (FL), лимфому Беркитта, иммунобластную крупноклеточную лимфому, В-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников и лимфому из клеток маргинальной зоны) и Т-клеточные формы лимфомы (например, кожную Т-клеточную лимфому (CTCL), периферическую Т-клеточную лимфому (PTCL), фунгоидный микоз, анапластическую крупноклеточную лимфому и Т-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников).

В руководствах по лечению рецидивной/рефрактерной (R/R) NHL рекомендуется применение многокомпонентной химиотерапии (в комбинации с направленной терапией В-клеточных форм лимфомы), брентуксимаба ведотина (BV), аутологичной или аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) и/или лучевой терапии с добавлением местных видов терапии MF/SS. Национальная комплексная онкологическая сеть США, неходжкинская лимфома (версия 3.2016). Процентные показатели относительной выживаемости в течение 5 лет составляют 48%, 44% и 86% при DLBCL, PTCL и MF/SS соответственно. Han X et al., Cancer Causes Control 2008;19:841-858.

Согласно определенным аспектам настоящее раскрытие относится к способу лечения субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из лимфомы Ходжкина (HL), предусматривающему введение субъекту (а) антитела к PD-1 и (b) антитела к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль предусматривает HL. Согласно одному конкретному варианту осуществления HL представляет собой классическую HL (сHL).

Согласно определенным аспектам настоящее раскрытие относится к способу лечения субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из неходжкинской лимфомы (NHL), предусматривающему введение субъекту (а) антитела к PD-1 и (b) антитела к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль предусматривает NHL. Согласно определенным вариантам осуществления NHL представляет собой рецидивную или рефрактерную NHL. Согласно некоторым вариантам осуществления NHL представляет собой В-клеточную лимфому, например, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), фолликулярную лимфому (FL), лимфому Беркитта, иммунобластную крупноклеточную лимфому, В-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников, лимфому из клеток маргинальной зоны или любую их комбинацию. Согласно некоторым вариантам осуществления NHL представляет собой Т-клеточную лимфому, например, кожную Т-клеточную лимфому (CTCL), периферическую Т-клеточную лимфому (PTCL), фунгоидный микоз, анапластическую крупноклеточную лимфому, Т-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников или любую их комбинацию. Согласно конкретным вариантам осуществления NHL выбрана из группы, состоящей из DLBCL, PTCL, CTCL и любой их комбинации.

Известно, что при различных формах лимфомы экспрессируется CD30. Например, CD30 экспрессируется клетками Рид-Штернберга, типичными для HL, и экспрессию CD30 наблюдали при различных

формах NHL, включая без ограничения диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), периферическую Т-клеточную лимфому (PTCL) и кожную Т-клеточную лимфому (CTCL). Соответственно, согласно некоторым вариантам осуществления опухоль содержит одну или несколько клеток, которые экспрессируют CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере приблизительно 0,01%, по меньшей мере приблизительно 0,1%, по меньшей мере приблизительно 1%, по меньшей мере приблизительно 2%, по меньшей мере приблизительно 3%, по меньшей мере приблизительно 4%, по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 6%, по меньшей мере приблизительно 7%, по меньшей мере приблизительно 8%, по меньшей мере приблизительно 9%, по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 45%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 65%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90% или по меньшей мере приблизительно 95% опухолевых клеток экспрессируют CD30. Согласно одному конкретному варианту осуществления по меньшей мере приблизительно 1% опухолевых клеток экспрессируют CD30. Согласно другому варианту осуществления по меньшей мере приблизительно 10% опухолевых клеток экспрессируют CD30. Согласно другому варианту осуществления по меньшей мере приблизительно 20% опухолевых клеток экспрессируют CD30. Согласно другому варианту осуществления по меньшей мере приблизительно 30% опухолевых клеток экспрессируют CD30. Согласно другому варианту осуществления по меньшей мере приблизительно 40% опухолевых клеток экспрессируют CD30. Согласно другому варианту осуществления по меньшей мере приблизительно 50% опухолевых клеток экспрессируют CD30.

PD-L1-статус опухоли (например, опухоли, происходящей из NHL и/или HL) у субъекта может быть определен до введения какой-либо композиции или использования какого-либо раскрытого в настоящем документе способа. Экспрессию PD-L1 можно определять с помощью любых известных в данной области способов.

Согласно одному варианту осуществления для оценки экспрессии PD-L1 можно получать тестируемый образец ткани от нуждающегося в терапии пациента. Согласно другому варианту осуществления оценку экспрессии PD-L1 можно проводить без получения тестируемого образца ткани. Согласно некоторым вариантам осуществления выбор подходящего пациента включает (i) необязательно обеспечение тестируемого образца ткани, полученного от пациента с раком ткани, тестируемого образца ткани, содержащего опухолевые клетки и/или инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки; и (ii) оценку доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют PD-L1 на поверхности клеток, на основе оценки того, что доля клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности, превышает таковую предварительно определенного порогового уровня.

Однако следует понимать, что в любых способах, предусматривающих измерение уровня экспрессии PD-L1 в тестируемом образце ткани, стадия, предусматривающая обеспечение тестируемого образца ткани, полученного от пациента, является необязательной стадией. Также следует понимать, что согласно определенным вариантам осуществления стадия "измерения" или "оценки" для идентификации или определения числа или доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности, осуществляют с помощью модифицируемого способа оценки экспрессии PD-L1, например, путем осуществления анализа на основе полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (RT-PCR) или ИНС-анализа. Согласно определенным другим вариантам осуществления модифицируемая стадия не включена, и экспрессию PD-L1 оценивают с помощью, например, изучения отчета по результатам тестирования из лаборатории. Согласно определенным вариантам осуществления стадии способов, осуществляемые до и включающие оценку экспрессии PD-L1, обеспечивают промежуточный результат, который может быть предоставлен лечащему врачу или другому медицинскому работнику для применения при выборе подходящего кандидата на терапию антителом к PD-1 или антителом к PD-L1. Согласно определенным вариантам осуществления стадии, которые обеспечивают промежуточный результат, осуществляются практикующим врачом или кем-то, действующим под руководством практикующего врача. Согласно другим вариантам осуществления эти стадии осуществляются независимой лабораторией или независимым лицом, таким как лаборант.

Согласно определенным вариантам осуществления любых из способов по настоящему изобретению долю клеток, которые экспрессируют PD-L1, оценивают путем осуществления анализа с целью определения наличия РНК PD-L1. Согласно дополнительным вариантам осуществления наличие РНК PD-L1 определяют с помощью RT-PCR, *in situ* гибридизации или защиты от РНКазы. Согласно другим вариантам осуществления долю клеток, которые экспрессируют PD-L1, оценивают путем осуществления анализа с целью определения наличия полипептида PD-L1. Согласно дополнительным вариантам осуществления наличие полипептида PD-L1 определяют с помощью иммуногистохимического исследования (ИНС), ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA), *in vivo* визуализации или проточной цитометрии. Согласно некоторым вариантам осуществления экспрессию PD-L1 анализируют с помощью ИНС. Со-

гласно другим вариантам осуществления всех из этих способов экспрессию PD-L1 на клеточной поверхности анализируют с применением, например, ИНС или *in vivo* визуализации. Chen et al., (2013) Clin Cancer Res 19(13): 3462-3473.

Методики визуализации предоставили 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), биолюминесцентную визуализацию (BLI), лазерную сканирующую конфокальную микроскопию (LSCM) и многофотонную микроскопию (MPM), вероятно, предвещают еще более широкое применение таких методик в исследовании рака. Некоторые из таких систем молекулярной визуализации позволяют клиницистам не только увидеть, где в организме локализуется опухоль, но также визуализировать экспрессию и активность специфических молекул, клеток и биологических процессов, которые влияют на характер изменения опухоли и/или эффективность на терапевтические 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 перспективной 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)). Согласно определенным вариантам осуществления любых из способов по настоящему изобретению экспрессию PD-L1 анализируют с помощью иммуно-PET-визуализации. Согласно определенным вариантам осуществления любых из способов по настоящему изобретению долю клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют PD-L1, оценивают путем осуществления анализа с целью определения наличия полипептида PD-L1 на поверхности клеток в тестируемом образце ткани. Согласно определенным вариантам осуществления тестируемый образец ткани представляет собой FFPE-образец ткани. Согласно другим вариантам осуществления наличие полипептида PD-L1 определяют с помощью ИНС-анализа. Согласно дополнительным вариантам осуществления ИНС-анализ осуществляют с применением автоматизированного процесса. Согласно некоторым вариантам осуществления ИНС-анализ осуществляют с применением моноклонального антитела к PD-L1 для связывания с полипептидом PD-L1.

Согласно одному варианту осуществления способов по настоящему изобретению автоматизированный способ ИНС применяют для анализа экспрессии PD-L1 на поверхности клеток в FFPE-препаратах тканей. Настоящее раскрытие относится к способам выявления наличия антигена PD-L1 человека в тестируемом образце ткани или количественного определения уровня антигена PD-L1 человека или доли в образце клеток, которые экспрессируют антиген, причем способы предусматривают приведение тестируемого образца и образца в качестве отрицательного контроля в контакт с моноклональным антителом, которое специфически связывается с PD-L1 человека, в условиях, которые обеспечивают образование комплекса между антителом или его частью и PD-L1 человека. Согласно определенным вариантам осуществления тестируемые и контрольные образцы тканей представляют собой FFPE-образцы. Затем выявляют образование комплекса, причем разница в образовании комплекса между тестируемым образцом и образцом в качестве отрицательного контроля указывает на присутствие антигена PD-L1 человека в образце. Для количественного определения экспрессии PD-L1 применяют различные способы.

Согласно конкретному варианту осуществления автоматизированный способ ИНС предусматривает: (a) депарафинирование и регидратирование зафиксированных срезов тканей в автоматизированной системе окрашивания; (b) демаскировку антигена с применением камеры для демаскировки антигенов Decloaking Chamber и буфера с pH 6, нагретого до 110°C в течение 10 мин; (c) помещение реагентов в автоматизированную систему окрашивания; и (d) обеспечение работы автоматизированной системы окрашивания с включением стадий нейтрализации эндогенной пероксидазы в препаратах тканей; блокирование сайтов неспецифического связывания белков на срезах; инкубирование срезов с первичным антителом; инкубирование с применяемым после первичного антитела блокирующим средством; инкубирование с полимером NovoLink; добавление хромогенного субстрата и проявление; и контрастное окрашивание гематоксилином.

Для оценки экспрессии PD-L1 в образцах опухолевой ткани специалист по лабораторной диагностике определяет число PD-L1⁺ (мембранный) опухолевых клеток в каждом поле под микроскопом и в уме оценивает процентную долю клеток, которые являются положительными, затем усредняет их с получением в результате конечной процентной доли. Разные показатели интенсивности окрашивания определены как 0/отрицательный, 1+/слабый, 2+/средний и 3+/сильный. Обычно процентным значениям сперва присваивают баллы 0 и 3+, а затем учитывают промежуточные показатели интенсивности 1+ и 2+. В случае сильно гетерогенных тканей препарат делят на зоны, и каждой зоне отдельно присваивают баллы, а затем объединяют в одну группу процентных значений. Процентные значения отрицательных и положительных клеток для разных показателей интенсивности окрашивания определяют из каждой области, и каждой зоне приписывают среднее значение. Конечное процентное значение приписывают ткани для каждой категории интенсивности окрашивания: отрицательный, 1+, 2+ и 3+. Суммарное значение

всех показателей интенсивности окрашивания должно составлять 100%. Согласно одному варианту осуществления граничное число клеток, которые должны быть PD-L1-положительными, составляет по меньшей мере приблизительно 100, по меньшей мере приблизительно 125, по меньшей мере приблизительно 150, по меньшей мере приблизительно 175 или по меньшей мере приблизительно 200 клеток. Согласно определенным вариантам осуществления граничное число клеток, которые должны быть PD-L1-положительными, составляет по меньшей мере приблизительно 100 клеток.

Окрашивание также оценивают среди инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток, таких как макрофаги и лимфоциты. В большинстве случаев макрофаги выполняют функцию внутреннего положительного контроля, поскольку окрашивание наблюдается среди значительной доли макрофагов. Хотя и не требуется окрашивание с интенсивностью 3+, отсутствие окрашивания макрофагов следует учитывать для исключения технических проблем. Макрофаги и лимфоциты оценивают в отношении окрашивания плазматической мембраны, и все образцы регистрируют только как положительные или отрицательные для каждого типа клеток. Окрашивание также характеризуют в соответствии с классификацией иммунных клеток как вне-/внутриопухолевых. "Внутри-" означает, что иммунная клетка находится в пределах опухолевой ткани и/или на границах опухолевой области, не будучи физически расположена среди опухолевых клеток. "Вне-" означает, что физическая связь с опухолью отсутствует, иммунные клетки обнаруживаются на периферии, ассоциированные с соединительной тканью или другой ассоциированной смежной тканью.

Согласно определенным вариантам осуществления таких способов оценки образцы оценивают два специалиста по лабораторной диагностике, работая независимо друг от друга, и показатели впоследствии объединяют. Согласно определенным другим вариантам осуществления идентификацию положительных и отрицательных клеток оценивают с применением соответствующего программного обеспечения.

Гистосчет применяют в качестве более количественной оценки данных ИНС. Гистосчет рассчитывают следующим образом:

$$\text{Гистосчет} = [(\% \text{ опухоли} \times 1 \text{ (низкая интенсивность)}) + (\% \text{ опухоли} \times 2 \text{ (средняя интенсивность)}) + (\% \text{ опухоли} \times 3 \text{ (высокая интенсивность)})]$$

Для определения гистосчета специалист по лабораторной диагностике оценивает процентную долю окрашенных клеток в каждой категории интенсивности в пределах препарата. Поскольку экспрессия большинства биомаркеров является гетерогенной, гистосчет является более точным отображением общей экспрессии. Диапазон конечного гистосчета составляет от 0 (экспрессия отсутствует) до 300 (максимальный уровень экспрессии).

Альтернативным способом количественного определения экспрессии PD-L1 при ИНС тестируемого образца ткани является определение показателя смежного воспаления (AIS), определяемого как степень воспаления, умноженная на экспрессию PD-L1 инфильтрирующими опухоль воспалительными клетками в процентах (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)).

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии PD-L1 опухоли (например, опухоли, происходящей из NHL и/или HL) составляет по меньшей мере приблизительно 1%, по меньшей мере приблизительно 2%, по меньшей мере приблизительно 3%, по меньшей мере приблизительно 4%, по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 6%, по меньшей мере приблизительно 7%, по меньшей мере приблизительно 8%, по меньшей мере приблизительно 9%, по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 11%, по меньшей мере приблизительно 12%, по меньшей мере приблизительно 13%, по меньшей мере приблизительно 14%, по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95% или приблизительно 100%. Согласно другому варианту осуществления PD-L1-статус опухоли составляет по меньшей мере приблизительно 1%. Согласно другим вариантам осуществления PD-L1-статус опухоли составляет по меньшей мере приблизительно 5%. Согласно определенному варианту осуществления PD-L1-статус опухоли составляет по меньшей мере приблизительно 10%. Согласно одному варианту осуществления PD-L1-статус опухоли составляет по меньшей мере приблизительно 25%. Согласно конкретному варианту осуществления PD-L1-статус опухоли составляет по меньшей мере приблизительно 50%.

Выражение "PD-L1-положительный" в контексте настоящего документа можно применять взаимозаменяемо с выражением "уровень экспрессии PD-L1 по меньшей мере приблизительно 1%". Согласно одному варианту осуществления PD-L1-положительные опухоли могут, таким образом, содержать по меньшей мере приблизительно 1%, по меньшей мере приблизительно 2%, по меньшей мере приблизительно

тельно 5%, по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95% или приблизительно 100% экспрессирующих PD-L1 опухолевых клеток, как измерено с помощью автоматизированного ИНС. Согласно определенным вариантам осуществления "PD-L1-положительный" означает, что имеется по меньшей мере 100 клеток, которые экспрессируют PD-L1 на поверхности клеток.

Фармацевтические композиции и дозировки.

Терапевтические средства по настоящему раскрытию могут быть составлены в композицию, например, фармацевтическую композицию, содержащую антитело и фармацевтически приемлемый носитель. В контексте настоящего документа "фармацевтически приемлемый носитель" включает любые возможные растворители, диспергирующие среды, оболочки, противобактериальные и противогрибковые средства, изотонические средства и средства, замедляющие всасывание, и т.д., которые являются физиологически совместимыми. Согласно некоторым вариантам осуществления носитель для содержащей антитело композиции подходит для внутривенного, внутримышечного, подкожного, парентерального, спинномозгового или эпидермального введения (например, путем инъекции или инфузии). Фармацевтическая композиция по настоящему раскрытию может включать одно или несколько из фармацевтически приемлемых солей, антиоксидантов, водных или безводных носителей и/или вспомогательных веществ, таких как консерванты, смачивающие средства, эмульгирующие средства и диспергирующие средства.

Схемы приема корректируют для обеспечения оптимального требуемого ответа, например, максимального терапевтического ответа и/или минимальных нежелательных эффектов. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в дозе, рассчитанной на вес. В случае введения антитела к PD-1 дозировка может находиться в диапазоне от по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг до по меньшей мере приблизительно 20 мг/кг, от по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг до по меньшей мере приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 3 мг/кг, от приблизительно 7,5 мг/кг до приблизительно 12,5 мг/кг или от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг веса тела субъекта. Например, дозировки могут составлять по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,3 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 2 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 3 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 10 мг/кг веса тела. Согласно определенным вариантам осуществления дозировка антитела к PD-1 составляет 3 мг/кг веса тела.

Согласно одному варианту осуществления схема приема антитела к PD-1 предусматривает приблизительно 0,3-1 мг/кг веса тела, приблизительно 5 мг/кг веса тела, 1-5 мг/кг веса тела или приблизительно 1-3 мг/кг веса тела путем внутривенного введения, причем антитело дают каждые приблизительно 14-21 дней в пределах до приблизительно 6-недельных или приблизительно 12-недельных циклов до тех пор, пока не будет наблюдаться полный ответ или подтвержденное прогрессирование заболевания. Согласно некоторым вариантам осуществления лечение антителом или любое комбинированное лечение, раскрытое в настоящем документе, продолжают в течение по меньшей мере приблизительно 1 месяца, по меньшей мере приблизительно 3 месяцев, по меньшей мере приблизительно 6 месяцев, по меньшей мере приблизительно 9 месяцев, по меньшей мере приблизительно 1 года, по меньшей мере приблизительно 18 месяцев, по меньшей мере приблизительно 24 месяцев, по меньшей мере приблизительно 3 лет, по меньшей мере приблизительно 5 лет или по меньшей мере приблизительно 10 лет.

Схему применения препарата обычно рассчитывают для достижения показателей экспозиции, которые обеспечивают в результате устойчивую занятость рецепторов (RO), исходя из типичных фармакокинетических свойств антитела. Иллюстративная схема лечения включает введение один раз в неделю, один раз каждые 2 недели, один раз каждые 3 недели, один раз каждые 4 недели, один раз в месяц, один раз каждые 3-6 месяцев или больше. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1, такое как ниволумаб, вводят субъекту один раз каждые 2 недели. Согласно другим вариантам осуществления антитело вводят один раз каждые 3 недели. Дозировку и схему применения на протяжении курса лечения можно менять. Антитело к PD-1 можно вводить по меньшей мере в двух дозах, причем каждая из доз находится в количестве от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, например, 3 мг/кг, с интервалом времени между приемами двух доз каждые две недели. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят по меньшей мере в трех, четырех, пяти, шести или семи дозах (т.е. в виде множества доз), причем каждая из доз находится в количестве от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, например, 3 мг/кг, с интервалом времени между приемами двух смежных доз каждые две недели. Дозировку и схему применения на протяжении курса лечения можно менять. Например, схема применения препарата в случае монотерапии антителом PD-1 может предусматривать введе-

ние антитела: (i) каждые 2 недели в пределах 6-недельных циклов; (ii) каждые 4 недели для шести доз, затем каждые три месяца; (iii) каждые 3 недели; или (iv) 3-10 мг/кг один раз, затем 1 мг/кг каждые 2-3 недели. С учетом того, что IgG4-антитело обычно характеризуется периодом полувыведения 2-3 недели, схема приема антитела к PD-1 по настоящему раскрытию предусматривает 0,3-10 мг/кг веса тела, например, 1-5 мг/кг веса тела, например, 1-3 мг/кг веса тела путем внутривенного введения, причем антитело дают каждые 14-21 дней в пределах до 6-недельных или 12-недельных циклов до тех пор, пока не будет наблюдаться полный ответ или подтвержденное прогрессирование заболевания.

Согласно конкретным вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в дозе в диапазоне от по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг до по меньшей мере приблизительно 10,0 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 1, 2 или 3 недели. Согласно дополнительным вариантам осуществления антитело к PD-1 (например, ниволумаб) вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 3 мг/кг веса тела один раз приблизительно каждые 2 недели. Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 (например, пембролизумаб) вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 200 мг каждые 3 недели или 2 мг/кг (до 200 мг) каждые три недели. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 (например, авелумаб) вводят в дозе 10 мг/кг каждые две недели.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в постоянной дозе. Согласно вариантам осуществления постоянная доза антитела к PD-1 представляет собой дозу (например, постоянную дозу), составляющую по меньшей мере приблизительно 100-600 мг, по меньшей мере приблизительно 400-500 мг, как, например, по меньшей мере приблизительно 480 мг или по меньшей мере приблизительно 100-300 мг, как, например, по меньшей мере приблизительно 200-300 мг, по меньшей мере приблизительно 220-260 мг, по меньшей мере приблизительно 230-250 мг или по меньшей мере приблизительно 240 мг, как, например, по меньшей мере приблизительно 60 мг, по меньшей мере приблизительно 80 мг, по меньшей мере приблизительно 100 мг, по меньшей мере приблизительно 120 мг, по меньшей мере приблизительно 140 мг, по меньшей мере приблизительно 160 мг, по меньшей мере приблизительно 180 мг, по меньшей мере приблизительно 200 мг, по меньшей мере приблизительно 220 мг, по меньшей мере приблизительно 240 мг, по меньшей мере приблизительно 260 мг, по меньшей мере приблизительно 280 мг, по меньшей мере приблизительно 300 мг, по меньшей мере приблизительно 320 мг, по меньшей мере приблизительно 360 мг, по меньшей мере приблизительно 400 мг, по меньшей мере приблизительно 440 мг, по меньшей мере приблизительно 480 мг, по меньшей мере приблизительно 500 мг, по меньшей мере приблизительно 550 мг, по меньшей мере приблизительно 600 мг, по меньшей мере приблизительно 650 мг, по меньшей мере приблизительно 700 мг, по меньшей мере приблизительно 750 мг или по меньшей мере приблизительно 800 мг. Согласно одному варианту осуществления доза антитела к PD-1 (например, постоянная доза) составляет по меньшей мере приблизительно 240 мг или по меньшей мере приблизительно 480 мг, например, от 240 мг до 480 мг, один раз приблизительно каждые 2-4 недели. Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающую часть вводят в более высокой дозе, т.е. по меньшей мере приблизительно 240 мг. Согласно конкретному варианту осуществления антитело к PD-1 вводят в постоянной дозе приблизительно 360 мг один раз приблизительно каждые 3 недели.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в постоянной дозе. Согласно вариантам осуществления постоянная доза антитела к PD-1 представляет собой дозу (например, постоянную дозу), составляющую приблизительно 100-600 мг, приблизительно 400-500 мг, как, например, приблизительно 480 мг, или приблизительно 100-300 мг, как, например, приблизительно 200-300 мг, приблизительно 220-260 мг, приблизительно 230-250 мг или приблизительно 240 мг, как, например, приблизительно 60 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 120 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 220 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 260 мг, приблизительно 280 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 320 мг, приблизительно 360 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 440 мг, приблизительно 480 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 720 мг, приблизительно 750 мг или приблизительно 800 мг. Согласно одному варианту осуществления доза антитела к PD-1 (например, постоянная доза) составляет приблизительно 240 мг или приблизительно 480 мг, например, от 240 мг до 480 мг, один раз приблизительно каждые 2-4 недели. Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающую часть вводят в более высокой дозе, т.е. приблизительно 240 мг. Согласно конкретному варианту осуществления антитело к PD-1 вводят в постоянной дозе приблизительно 360 мг один раз приблизительно каждые 3 недели.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят с антителом к CD30 в фиксированной дозе. Согласно некоторым вариантам осуществления соотношение мг антитела к PD-1 и антитела к CD30 составляет по меньшей мере приблизительно 1:1, приблизительно 1:2, приблизительно 1:3, приблизительно 1:4, приблизительно 1:5, приблизительно 1:6, приблизительно 1:7, приблизительно 1:8, приблизительно 1:9, приблизительно 1:10, приблизительно 1:15, приблизительно 1:20, приблизительно 1:30, приблизительно 1:40, приблизительно 1:50, приблизительно 1:60, приблизительно 1:70, приблизительно 1:80, приблизительно 1:90, приблизительно 1:100, приблизительно 1:120, приблизительно

1:140, приблизительно 1:160, приблизительно 1:180, приблизительно 1:200, приблизительно 200:1, приблизительно 180:1, приблизительно 160:1, приблизительно 140:1, приблизительно 120:1, приблизительно 100:1, приблизительно 90:1, приблизительно 80:1, приблизительно 70:1, приблизительно 60:1, приблизительно 50:1, приблизительно 40:1, приблизительно 30:1, приблизительно 20:1, приблизительно 15:1, приблизительно 10:1, приблизительно 9:1, приблизительно 8:1, приблизительно 7:1, приблизительно 6:1, приблизительно 5:1, приблизительно 4:1, приблизительно 3:1 или приблизительно 2:1.

В случае применения в комбинации с другими противораковыми средствами дозировку антитела к PD-1 можно снизить по сравнению с дозой в случае монотерапии. Например, дозировка ниволумаба, которая является значительно более низкой, чем типичные 3 мг/кг, но не менее 0,001 мг/кг, к примеру, 0,1 мг/кг или меньше каждые 3 или 4 недели, считается субтерапевтической дозировкой. Субтерапевтические дозы антитела к PD-1, применяемого в способах согласно настоящему документу, выше 0,001 мг/кг и ниже 3 мг/кг. Согласно некоторым вариантам осуществления субтерапевтическая доза составляет от приблизительно 0,001 мг/кг до приблизительно 1 мг/кг, от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 1 мг/кг, от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 1 мг/кг или от приблизительно 0,001 мг/кг до приблизительно 0,1 мг/кг веса тела. Согласно некоторым вариантам осуществления субтерапевтическая доза составляет по меньшей мере приблизительно 0,001 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,05 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг веса тела. Данные по занятости рецепторов от 15 субъектов, которые получали дозу ниволумаба от 0,3 мг/кг до 10 мг/кг, указывают на то, что занятость PD-1, по-видимому, не зависит от дозы в этом диапазоне доз. Среди всех доз средний уровень занятости составлял 85% (диапазон от 70% до 97%), со средним стабильным значением 72% (диапазон от 59% до 81%). (Brahmer et al, J Clin Oncol 28:3167-75 2010). Согласно некоторым вариантам осуществления введение дозы 0,3 мг/кг может обеспечить достаточную экспозицию для достижения максимальной биологической активности. Согласно конкретному варианту осуществления антитело к CD30, например, BV, вводят в дозе 1,8 мг/кг один раз каждые 3 недели.

Хотя более высокая доза ниволумаба в качестве монотерапии, составляющая вплоть до 10 мг/кг каждые две недели, была достигнута без достижения максимальной переносимой дозы (MTD), в других клинических испытаниях ингибиторов контрольных точек и антиангиогенной терапии (см., например, Johnson et al., 2013; Rini et al., 2011) сообщалось о значимых показателях токсичности, что служит доводом в пользу выбора дозы ниволумаба менее 10 мг/кг.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к CD30 (например, брентуксимаб ведотин) вводят в дозе, рассчитанной на вес. В случае введения антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина), дозировка может находиться в диапазоне от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг, от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг, от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг, от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг, от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 3 мг/кг, от приблизительно 0,1 до приблизительно 2 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 3 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 2 мг/кг веса тела субъекта. Например, дозировки могут составлять приблизительно 0,05 мг/кг, приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно 0,2 мг/кг, приблизительно 0,3 мг/кг, приблизительно 0,4 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,6 мг/кг, приблизительно 0,7 мг/кг, приблизительно 0,8 мг/кг, приблизительно 0,9 мг/кг, приблизительно 1,0 мг/кг, приблизительно 1,1 мг/кг, приблизительно 1,2 мг/кг, приблизительно 1,3 мг/кг, приблизительно 1,4 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 1,6 мг/кг, приблизительно 1,7 мг/кг, приблизительно 1,8 мг/кг, приблизительно 1,9 мг/кг, приблизительно 2,0 мг/кг, приблизительно 2,1 мг/кг, приблизительно 2,2 мг/кг, приблизительно 2,3 мг/кг, приблизительно 2,4 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 2,6 мг/кг, приблизительно 2,7 мг/кг, приблизительно 2,8 мг/кг, приблизительно 2,9 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 6 мг/кг, приблизительно 7 мг/кг, приблизительно 8 мг/кг, приблизительно 9 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 11 мг/кг, приблизительно 12 мг/кг, приблизительно 13 мг/кг, приблизительно 14 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг или приблизительно 20 мг/кг веса тела субъекта.

Согласно некоторым вариантам осуществления дозировка антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина) составляет 0,1 мг/кг веса тела. Согласно другим вариантам осуществления дозировка антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина) составляет 0,2 мг/кг веса тела. Согласно другим вариантам осуществления дозировка антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина) составляет 0,3 мг/кг веса тела. Согласно другим вариантам осуществления дозировка антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина) составляет 0,4 мг/кг веса тела. Согласно другим вариантам осуществления дозировка антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина) составляет 0,5 мг/кг веса тела. Согласно другим вариантам осуществления дозировка антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина) со-

содержит дозу антитела к CD30 (например, брентуксимаба ведотина) приблизительно 1,8 мг/кг и дозу антитела к PD-1 (например, ниволумаба) приблизительно 3 мг/кг.

Лечение продолжают до тех пор, пока не будет наблюдаться клиническая польза или пока не возникнет неприемлемая токсичность или прогрессирование заболевания. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 можно вводить в дозировке, для которой в клинических испытаниях было показано, что она обеспечивает наиболее высокую эффективность в качестве монотерапии, например, приблизительно 3 мг/кг ниволумаба вводят один раз приблизительно каждые три недели (Topalian et al, 2012 N Engl J Med 366:2443-54; Topalian et al, 2012 Curr Opin Immunol 24:207-12), в постоянной дозе 240 мг или при значительно более низкой дозе, т.е. в субтерапевтической дозе.

Согласно определенным вариантам осуществления субъекта лечат комбинацией антитела к PD-1 и антитела к CD30 один раз приблизительно каждые 3 недели в течение заданного периода времени после монотерапии антителом к PD-1 или монотерапии антителом к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления субъекта лечат комбинацией антитела к PD-1 и антитела к CD30 один раз приблизительно каждые 3 недели в течение приблизительно 6 недель после монотерапии антителом к PD-1 или монотерапии антителом к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления субъекта лечат комбинацией антитела к PD-1 и антитела к CD30 один раз приблизительно каждые 3 недели в течение приблизительно 9 недель после монотерапии антителом к PD-1 или монотерапии антителом к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления субъекта лечат комбинацией антитела к PD-1 и антитела к CD30 один раз приблизительно каждые 3 недели в течение приблизительно 12 недель после монотерапии антителом к PD-1 или монотерапии антителом к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления субъекта лечат комбинацией антитела к PD-1 и антитела к CD30 один раз приблизительно каждые 3 недели в течение приблизительно 24 недель после монотерапии антителом к PD-1 или монотерапии антителом к CD30. Согласно некоторым вариантам осуществления субъекта лечат комбинацией антитела к PD-1 и антитела к CD30 один раз приблизительно каждые 3 недели в течение приблизительно 48 недель после монотерапии антителом к PD-1 или монотерапии антителом к CD30. Антитело к PD-1 в качестве монотерапии можно вводить любым раскрытым в настоящем документе путем в любой раскрытой в настоящем документе дозе. Согласно одному варианту осуществления антитело к PD-1 в качестве монотерапии вводят внутривенно в постоянной дозе 240 мг. Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 в качестве монотерапии вводят внутривенно в дозе 3 мг/кг или 6 мг/кг. Антитело к CD30 в качестве монотерапии можно вводить любым раскрытым в настоящем документе путем в любой раскрытой в настоящем документе дозе. Согласно одному варианту осуществления антитело к CD30 в качестве монотерапии, например, брентуксимаб ведотин, вводят внутривенно в дозе 1,8 мг/кг.

Дозировка и частота варьируются в зависимости от периода полувыведения антитела в организме субъекта. В целом, антитела человека характеризуются наиболее продолжительным периодом полувыведения, далее идут гуманизированные антитела, химерные антитела и антитела, не являющиеся человеческими. Дозировка и частота введения может варьироваться в зависимости от того, является лечение профилактическим или терапевтическим. При профилактических применениях обычно вводят относительно низкую дозировку с относительно нечастыми интервалами в течение длительного периода времени. Некоторые пациенты продолжают получать лечение до конца жизни. При терапевтических применениях в некоторых случаях требуется введение относительно высокой дозировки с относительно короткими интервалами до тех пор, пока прогрессирование заболевания не замедлится или не остановится, и до тех пор, пока у пациента не будет наблюдаться частичное или полное облегчение симптомов заболевания. После этого пациент может применять профилактический режим.

Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему раскрытию могут варьироваться для получения количества активного ингредиента, которое является эффективным для достижения требуемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, без чрезмерной токсичности для пациента. Выбранный уровень дозировки будет зависеть от ряда фармакокинетических факторов, включая активность конкретных используемых композиций по настоящему раскрытию, путь введения, время введения, скорость выведения конкретного соединения, которое будет использовано, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или вещества, применяемые в комбинации с конкретными используемыми композициями, возраст, пол, вес, состояние, общее состояние здоровья и сведения о перенесенных ранее заболеваниях пациента, подлежащего лечению, и другие факторы, хорошо известные в области медицины. Композицию по настоящему раскрытию можно вводить посредством одного или нескольких путей введения с применением одного или нескольких из ряда хорошо известных в данной области способов. Как будет понятно специалисту в данной области, путь и/или способ введения будет варьироваться в зависимости от требуемых результатов.

Наборы.

Также в объем настоящего раскрытия входят наборы, содержащие антитело к PD-1 и антитело к CD30 для терапевтических применений. Наборы обычно включают информацию о препарате с указаниями касательно назначаемого использования содержимого набора и инструкции по применению. Термин "информация о препарате" включает любую запись или записанный материал, представленный на

упаковке набора или вместе с ним, или который каким-либо другим образом прилагается к набору. Соответственно, настоящее раскрытие относится к набору для лечения страдающего от рака субъекта, причем набор содержит: (а) дозировку антитела к PD-1 или его антигенсвязывающей части в диапазоне от приблизительно 4 мг до приблизительно 500 мг; (б) дозу антитела к CD30 или его антигенсвязывающей части в диапазоне от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 500 мг; и (с) инструкции по применению антитела к PD-1 и антитела к CD30 в любых их раскрытых в настоящем документе способах комбинированной терапии. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1, антитело к CD30 могут быть упакованы вместе в единичную лекарственную форму. Согласно определенным вариантам осуществления для лечения пациентов-людей, набор содержит раскрытое в настоящем документе антитело к PD-1 человека, например, ниволумаб, пембролизумаб, MED10680 (ранее известное как AMP-514), AMP-224 или BGB-A317. Согласно другим вариантам осуществления набор содержит раскрытое в настоящем документе антитело к CD30 человека, например, брентуксимаб ведотин.

Настоящее раскрытие дополнительно проиллюстрировано следующими примерами, которые не должны толковаться как ограничивающие. Содержания всех ссылок, цитируемых в настоящем изобретении, явным образом включены в настоящий документ посредством ссылки.

Примеры

Пример 1.

В настоящее время проводится открытое международное многоцентровое исследование фазы 1/2 (NCT02581631) с целью изучения безопасности и эффективности ниволумаба в комбинации с BV у пациентов с рецидивной/рефрактерной NHL.

Общая информация.

Варианты лечения пациентов с рецидивной рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) являются ограниченными. Ниволумаб является ингибитором контрольной точки иммунного ответа в виде полностью человеческого моноклонального IgG4-антитела, которое нацелено на рецептор-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) с целью восстановления активных Т-клеточных иммунных ответов в отношении опухоли (фиг. 1). Ниволумаб был одобрен в Соединенных Штатах для лечения метастатической меланомы, метастатического немелкоклеточного рака легкого и запущенной почечно-клеточной карциномы. Безопасность и переносимость ниволумаба является приемлемой в случае как солидных типов опухоли, так и типов опухоли кроветворной ткани. Несмотря на то, что в случае блокирования PD-1 наблюдали обнадеживающую активность при агрессивной В-клеточной и Т-клеточной NHL - в фазе 1 клинических испытаний была продемонстрирована доля пациентов с объективным ответом (ORR) 36% среди пациентов с рецидивной рефрактерной диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), которые проходили интенсивный курс предшествующего лечения - у большей части пациентов либо не наблюдался ответ на лечение, либо наблюдалось прогрессирование заболевания после первоначального ответа. Комбинированная терапия с использованием терапевтических средств, таких как конъюгаты антитела и лекарственного средства, может обеспечить повышение частоты и продолжительности ответов, за счет как непосредственного уничтожения клеток, так и иммуногенных последствий гибели клеток.

Брентуксимаб ведотин (BV) представляет собой конъюгат CD30-направленного антитела и лекарственного средства, для которого была показана противоопухолевая активность при целом ряде форм лимфооплазии. BV функционирует главным образом посредством индукции ареста клеточного цикла и гибели путем апоптоза экспрессирующих CD30 клеток. BV может также опосредовать иммуногенную гибель клеток, эффекты в виде неспецифического цитолиза и антителозависимый клеточный фагоцитоз (фиг. 2). Gardai SJ, et al. *Cancer Res* 2015;75(Suppl. 15):2469 [abstract]; Li F et al. *Cancer Res* 2016;76:2710-2719; и Oflazoglu E, et al. *Blood* 2007;110:4370-4372.

В исследованиях у пациентов с CD30+ рецидивной рефрактерной DLBCL, CD30+ рецидивной рефрактерной периферической Т-клеточной лимфомой (PTCL) и CD30+ кожной Т-клеточной лимфомой (CTCL), которых лечили BV, наблюдаемая ORR составляла 44%, 41% и 73% соответственно. BV одобрен в Соединенных Штатах для лечения сНЛ после безуспешной аутологичной трансплантации стволовых клеток (ASCT) или после безуспешных ≥ 2 схем предшествующей химиотерапии у не претендующих на ASCT кандидатов и системной анапластической крупноклеточной лимфомы после безуспешной ≥ 1 схемы химиотерапии. BV проявляет свой эффект посредством индукции ареста клеточного цикла и гибели путем апоптоза экспрессирующих CD30 клеток, и может также опосредовать иммуногенную гибель клеток, эффекты "свидетеля" и антителозависимый клеточный фагоцитоз. Поскольку BV может опосредовать иммуногенную гибель клеток, он мог бы действовать синергически с блокированием PD-1. Авторы настоящего изобретения предположили, что ниволумаб и BV могут индуцировать частые и продолжительные ответы у пациентов с CD30+ рецидивной рефрактерной Т-клеточной NHL и диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL).

Обоснование исследования.

Пациенты с рецидивными рефрактерными формами NHL после возникновения прогрессирования после системной терапии обуславливают наличие области важной неудовлетворенной медицинской потребности. BV может обеспечить синергический эффект вместе с ингибиторами контрольных точек им-

мунного ответа посредством индукции иммуногенной гибели клеток, что может обуславливать активацию экспрессии костимулирующей молекулы CD86 и антигенов МНС класса II на поверхности антигенпредставляющих клеток в микроокружении опухоли. Авторы настоящего изобретения предположили, что взаимодополняющие механизмы действия ниволумаба в комбинации с BV могли бы обеспечить частые и продолжительные ответы у пациентов с CD30+ рецидивной рефрактерной NHL.

Дизайн исследования.

Дизайн текущего несравнительного многоцентрового исследования фазы 1/2 показано на фиг. 3. Лечение длится в рамках 3-недельных циклов до тех пор, пока не возникнет прогрессирование заболевания или неприемлемая токсичность. Как ниволумаб, так и BV вводят в виде 30-минутных IV инфузий. В случае циклов, в которых оба терапевтических препарата дают в один и тот же день, схема применения является следующей: инфузия BV, 30-минутный отдых, инфузия ниволумаба. Запланированное включение в исследование предусматривает 96 пациентов: 6 в фазе 1 и 90 в фазе 2; набор пациентов будет равным среди 3 подтипов. Ключевые критерии включения и исключения показаны в табл. 1.

Таблица 1

Ключевые критерии включения/исключения

Включение	Исключение
Пациенты с рецидивными рефрактерными формами NHL, включая DLBCL, PTCL, CTCL, PMBL и MGZL	NHL, поражающая ЦНС
Экспрессия CD30 на поверхности $\geq 1\%$ опухолевых клеток, подтвержденная с помощью иммуногистохимического анализа	Случаи в анамнезе прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии
Возраст ≥ 15 лет для пациентов с PMBL, ≥ 18 лет для пациентов с другими результатами гистологического исследования	Любая активная инфекция 3+ степени в пределах 2 недель до введения первой дозы BV
Балл ECOG PS 0 или 1	Предшествующая нейропатия степени >2
Опухолевая ткань (биоптат) для биомаркерного анализа	Предшествующее воздействие BV
Измеряемые проявления болезни в соответствии с классификацией Lugano 2014 года для пациентов с DLBCL, PTCL, PMBL и MGZL	Предшествующее воздействие ингибитора контрольной точки иммунного ответа
	Подтвержденное аутоиммунное заболевание или подозрение на его наличие
ЦНС = центральная нервная система; ECOG PS = функциональный статус по шкале Восточной Объединенной Онкологической группы; ИHC = иммуногистохимическое исследование	

Цели исследования.

Первичные цели текущего исследования являются двунаправленными. Во-первых, у пациентов с рецидивными рефрактерными формами NHL будет оценена безопасность и переносимость ниволумаба в комбинации с BV. Во-вторых, у пациентов с рецидивными рефрактерными формами NHL будет оценена клиническая польза ниволумаба в комбинации с BV, которая измеряется по доле пациентов с объективным ответом (ORR; пациенты, у которых достигается наилучший общий ответ в виде либо частичного

ответа, либо полного ответа).

Вторичными целями является измерение продолжительности ответа, доли пациентов с полным объективным ответом (CR) и продолжительности CR, и выживаемости без прогрессирования (PFS) и общей доли выживших. Кроме того, поисковые цели включают (i) оценку промежуточного ответа (IR) согласно критериям оценки лимфомы на иммуностимуляторную терапию (Lymphoma Response to Immunomodulatory therapy Criteria, LYRIC); (ii) оценку экспрессии CD30 и PD-L1/2-статуса и корреляции с ответом, и (iii) идентификацию биомаркеров ответа или резистентности к схеме лечения комбинацией BV и ниволумаба.

После введения BV и ниволумаба у пациентов будут наблюдаться улучшенные показатели общей частоты ответа, увеличение общей выживаемости, увеличение выживаемости без прогрессирования, уменьшение опухолевой массы, уменьшение числа случаев связанных с лекарственным средством нежелательных явлений или любая их комбинация.

Пример 2.

В настоящее время проводится исследование фазы 1/2 (NCT02572167) для оценки профиля безопасности и противоопухолевой активности BV, вводимого в комбинации с ниволумабом, у пациентов с рецидивной или рефрактерной лимфомой Ходжкина (HL). Пациентов будут лечить в течение вплоть до четырех 21-дневных циклов BV 1,8 мг/кг и ниволумабом 3 мг/кг. Пациентам будут вводить 1,8 мг/кг BV в день 1 цикла 1 и 3 мг/кг ниволумаба в день 8 цикла 1. В течение циклов 2-4 BV и ниволумаб будут вводить в день 1 каждого цикла в одинаковых дозах, например, 1,8 мг/кг BV и 3 мг/кг ниволумаба. Как BV, так и ниволумаб будут вводить путем IV инъекции. После завершения цикла 4 оценки ответов (EOT) пациенты будут соответствовать критериям на возможность прохождения ASCT. Ответы оценивали с применением классификации Lugano 2014 года (Cheson et al., J Clin Oncol 2014;32(27):3059-68).

Это исследование будет состоять из двух частей. В части 1 Комитетом по мониторингу безопасности (Safety Monitoring Committee, SMC) будет оценена безопасность комбинированного лечения до расширения включения в исследование с целью оценки эффекта лечения в части 2. В части 2 исследования будет дополнительно охарактеризована безопасность и оценена противоопухолевая активность BV в комбинации с ниволумабом путем включения в исследование пациентов, для которых применяют рекомендованную схему приема дозы, определенную в части 1. Ключевые критерии включения и исключения показаны в табл. 2. Пациентов исключали из исследования, если они ранее получали более одной линии противораковой терапии; BV или любую иммуноонкологическую терапию, воздействующую на сигнальные пути с участием PD-1, CTLA4 или CD137; и/или проходили аллогенную или аутологичную трансплантацию стволовых клеток (ASCT).

Таблица 2

Ключевые критерии включения/исключения

Включение	Исключение
Рецидивная или рефрактерная лимфома Ходжкина после безуспешной стандартной первичной химиотерапии для лечения классической лимфомы Ходжкина	Ранее получали лечение BV, иммуноонкологическими средствами или проходили аллогенную или аутологичную трансплантацию стволовых клеток
	Подтвержденный в анамнезе случай цереброваскулярного нарушения
Функциональный статус 0 или 1 по шкале Восточной Объединенной Онкологической группы (ECOG)	Случаи в анамнезе другого инвазивного злокачественного новообразования, при котором не наблюдали ремиссию в течение по меньшей мере 3 лет
Возраст 18 лет или старше	Случаи в анамнезе прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии (PML)

Первичные оценки исходов текущего исследования являются двунаправленными. Во-первых, у пациентов с рецидивной или рефрактерной HL будет оценена безопасность и переносимость ниволумаба в комбинации с BV. Во-вторых, у пациентов с рецидивной или рефрактерной HL будет оценена клиническая польза ниволумаба в комбинации с BV, которая измеряется по доле пациентов с полным объектив-

ным ответом (CR) (CRR; пациенты, у которых достигается наилучший общий ответ в виде полного ответа) по окончании исследуемого лечения, частоте возникновения и тяжести АЕ.

Вторичные оценки исходов предназначены для определения доли пациентов с объективным ответом (ORR), продолжительности ответа, продолжительности полного ответа (CR) и объективного ответа и выживаемости без прогрессирования (PFS) после аутологичной трансплантации стволовых клеток. Кроме того, поисковые цели включают оценку экспрессии CD30 и корреляции с ответом и идентификацию биомаркеров ответа или резистентности к схеме лечения комбинацией BV и ниволумаба.

После введения BV и ниволумаба у пациентов будут наблюдаться улучшенные показатели общей частоты ответа, увеличение общей выживаемости, увеличение выживаемости без прогрессирования, уменьшение опухолевой массы, уменьшение числа случаев связанных с лекарственным средством нежелательных явлений или любая их комбинация.

Результаты.

Целевой набор из примерно 55 взрослых пациентов с классической лимфомой Ходжкина (сНЛ), при которой наблюдался рецидив, или которая была рефрактерной (RR) к первичной химиотерапии, соответствовал критериям, и информация по пациентам представлена ниже в табл. 3 и 4.

Таблица 3

Характеристики пациента

Индивидуальные данные пациента и характеристики заболевания	N = 62
Средний возраст, лет (диапазон)	36 (18-69)
Пол (М/Ж)	30/32
Статус заболевания по сравнению с первичным лечением, n (%)	
Первичное рефрактерное	28 (45)
Рецидивное, продолжительность ремиссии ≤1 года	19 (31)
Массивные поражения лимфатических узлов на исходном уровне, n (%)	8 (13)
Экстранодальное заболевание на исходном уровне, n (%)	16 (26)
Стадия заболевания при постановке первоначального диагноза, n (%)	
I/II	37 (60)
III/IV	24 (39)
Неизвестно	1 (2)
Среднее количество предшествующих видов терапии ^a (диапазон)	1 (1-3)
Схемы предшествующей химиотерапии, n (%)	
ABVD	56 (90)
BEACOPP	2 (3)
Stanford V	2 (3)
Другие ^b	6 (10)
Предшествующая лучевая терапия	9 (15)

Распределение пациентов

Распределение пациентов ^c	N = 62 n (%)
Получали ≥ 1 дозы обоих исследуемых лекарственных средств, n (%)	61 (98)
Продолжают лечение	0
Завершили лечение	58 (94)
Причина прекращения лечения ^d	
Решение пациента	2 (3)
Нежелательное явление	1 (2)
Решение исследователя	1 (2)
Получали альтернативную терапию спасения	12 (19)
ICE ^e	9 (15)
GEMOX	1 (2)
BeGEV	1 (2)
Ниволумаб	1 (2)

a включает лучевую терапию;

b ABVD + AVD (3 пациента), ABVE-PC (2 пациента), R-ABVD (1 пациент);

c 1 пациент прекратил лечение перед получением исследуемого лекарственного средства;

d пациенты, которые не получали исследуемое лекарственное средство, все еще имеют основания для прекращения лечения;

e 2 из 9 пациентов, которые получали ICE, также получали другие схемы лечения; 1 пациент получил 3 другие терапии спасения: карбоплатин/гемцитабин/decadron (оценка отсутствует), затем BV (PD), затем гемцитабин/оксалиплатин (PD) и 1 пациент страдал от HL и FL и получал бендамустин/ритуксимаб.

Изначально и до настоящего времени в исследование включено двадцать пять пациентов (60% женщины) в возрасте в среднем 32 года (диапазон, 18-69). У шестидесяти процентов пациентов наблюдался рецидив заболевания, у 36% наблюдалось первичное рефрактерное заболевание (не удалось достичь полного ответа (CR) с помощью первичной терапии, или наблюдался рецидив в пределах 3 месяцев после завершения первичной терапии) и статус 1 пациента (4%) был неизвестен. На момент включения в исследование у 32% пациентов наблюдалось экстранодальное заболевание и у 16% наблюдались массивные поражения лимфатических узлов.

На данный момент в исследование включено шестьдесят два пациента (52% женщины) в возрасте в среднем 36 года (диапазон, 18-69). У тридцати одного процента пациентов наблюдался рецидив заболевания и у сорока пяти процентов пациентов наблюдалось первичное рефрактерное заболевание. На момент включения в исследование у 26% пациентов наблюдалось экстранодальное заболевание и у 13% наблюдались массивные поражения лимфатических узлов.

На момент предыдущего сбора данных лечение получали 23 пациента. Повышенную частоту возникновения инфузионных реакций (IRR) наблюдали вначале комбинированного лечения во время цикла 2 в ходе инфузии BV, что привело к 1 отсрочке применения препарата. Премедикация кортикостероидами (100 мг гидрокортизона или эквивалента) и антигистаминными препаратами во время циклов 2-4 была введена посредством поправки к протоколу.

На момент предыдущего сбора данных шесть пациентов завершили комбинированное лечение, и у всех достигался объективный ответ (ORR, 100%), причем у 3 из 6 достигался полный метаболический ответ (CmR, 50%). Все 6 пациентов переходили непосредственно к ASCT. Среднее количество собранных CD34⁺ клеток составляло 12,9×10⁶ клеток/кг (диапазон, 5-26) при среднем количестве сеансов афереза 1,7 (диапазон, 1-2).

На данный момент пятьдесят девять пациентов (95%) завершили комбинированное лечение, с высокой долей пациентов с объективным ответом (85%), при этом полные ответы наблюдались у 63% (фиг. 5A и 5B). Дополнительная информация касательно ответов у пациентов представлена в табл. 5 ниже. Тридцать семь пациентов переходили к ASCT.

Таблица 5

	N = 59
	n (%)
Полный ответ (CR)	37 (63)
Deauville ≤ 2	29 (49)
Deauville 3	7 (12)
Deauville 5 ^a	1 (2)
Частичный ответ (PR)	13 (22)
Deauville 4	7 (12)
Deauville 5	6 (10)
Метаболический ответ (SD) отсутствует	5 (8)
Deauville 5	5 (8)
Прогрессирование заболевания (PD)	3 (5)
Deauville 5	2 (3)
Данные отсутствуют	1 (2)
Клиническое прогрессирование (CP)	1 (2)

^a у 1 пациента наблюдалось поглощение в лимфатическом узле, однако признаков заболевания по результатам биопсии обнаружено не было.

О примирении иммунной системы свидетельствовало повышение уровней провоспалительных цитокинов и хемокинов после введения дозы BV, при этом высокие уровни сохранялись после одновременного введения BV и ниволумаба (фиг. 6A-6D).

Кроме того, за изначальным уменьшением количества клеток некоторых субпопуляций Т-хелперов (включая Treg) (фиг. 7A) и активированных и пролиферирующих CD4⁺ Т-клеток (фиг. 7B и 7C) после введения BV в качестве монотерапевтического средства, следовало размножение после введения дозы комбинации.

BV и ниволумаб в комбинации хорошо переносились пациентами с рецидивной рефрактерной сНЛ. Потенциальные иммуноопосредованные АЕ, при которых требовалось применение стероидов, имели место у <10% пациентов (фиг. 8). И хотя IRR возникали относительно часто (41% пациентов), наиболее часто при инфузии BV во время цикла 2, и требовались приостановки применения препарата у 25% пациентов, максимальная тяжесть соответствовала степени 3, причем случаи имели место менее чем у 5% пациентов (фиг. 9).

Во время циклов 2-4 была введена вынужденная премедикация низкими дозами кортикостероидов (100 мг гидрокортизона или эквивалента) и антигистаминным препаратом. Частота IRR во время цикла 2 была одинаковой до и после введения премедикации, т.е. у 5 из 15 пациентов (33%) развивались IRR без премедикации, при этом у 15 из 45 пациентов (33%) развивались IRR без премедикации. Частота IRR во время циклов 3-4 была низкой независимо от требований премедикации.

Возникшие после начала лечения АЕ перед ASCT имели место у 98% пациентов при следующих показателях частоты: Степень 1 (25%), степень 2 (36%), степень 3 (33%; наиболее часто возникала анемия, при 8%) и степень 4 (5%). Связанные с лечением SAE имели место у 5 пациентов (8%): каждое из пневмонита и лихорадки имело место у 2 пациентов; и каждое из колита, общего недомогания, тошноты, пневмонии, дыхательной недостаточности и сепсиса имело место у 1 пациента. О каких-либо нетипичных токсических явлениях после ASCT не сообщалось.

Применение системных стероидов для устранения потенциальных иммуноопосредованных АЕ требовалось у 7% пациентов. 1 пациент перенес каждое из следующего: пневмонит и колит 4 степени (связанные с BV и ниволумабом, у 2 пациентов или 3%), пневмонит 2 степени (id.), диарея 3 степени и колит 2 степени, и повышение AST 3 степени.

Предварительные данные по биомаркерам указывают на BV-индуцированное уменьшение процентной доли CD4⁺ регуляторных Т-клеток (T_{reg}) в день 8 цикла 1, без какого-либо эффекта в отношении пролиферирующих CD8⁺ Т-клеток. Во время цикла 1 ниволумаб индуцировал интенсивное размножение Т-клеток через одну неделю после введения дозы (2 недели после введения дозы BV), при этом значимое изменение процентной доли CD4⁺ Th1-клеток по сравнению с исходным уровнем у большинства пациентов (5 из 6, 83%) не наблюдалось.

Ранние данные свидетельствуют о том, что комбинация BV и ниволумаба является активной и хо-

рошо переносимой терапией спасения у пациентов с рецидивной или рефрактерной (R/R) лимфомой Ходжкина (HL). Хотя и наблюдалась повышенная частота возникновения IRR, показатели токсичности при использовании этой схемы лечения в целом представляются допустимыми. Предварительные данные о противоопухолевой активности свидетельствуют о том, что эта комбинация может быть перспективным вариантом для пациентов с R/R HL.

Перспективная активность комбинации BV и ниволумаба способствует дальнейшему изучению этой новой схемы лечения для пациентов с RR cHL.

Пример 3.

Планируется рандомизированное, открытое клиническое испытание фазы 3 ниволумаба и брентуксимаба ведотина в сравнении с брентуксимабом ведотином отдельно у участников исследования с рецидивной рефрактерной или неподходящей для проведения аутологичной трансплантации стволовых клеток (ASCT) запущенной классической лимфомой Ходжкина.

Общая информация.

Экспрессируемый на клеточной поверхности мембранный рецептор-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) является представителем семейства CD28 Т-клеточных костимулирующих рецепторов. Экспрессия PD-1 является маркером истощения Т-клеток и ассоциирована с уклонением опухоли от иммунного надзора. Лимфома Ходжкина (HL) характеризуется генетической предрасположенностью к сверхэкспрессии лигандов белка-1 запрограммированной гибели клеток (PD)-1. Существует множество идентифицированных механизмов повышения уровня экспрессии PD-L1 и PD-L2 при HL. Также CD30 является мембранным белком семейства рецепторов фактора некроза опухоли. CD30 на высоком уровне экспрессируется при HL на поверхности клеток Рид-Штернберга. Учитывая избыточную экспрессию лигандов PD-1 и CD30 при HL, два белка обеспечивают возможность целенаправленного воздействия на специфические молекулы, ассоциированные с ростом и прогрессированием опухоли. Представляются перспективными проводимые в настоящее время клинические испытания с комбинацией брентуксимаба ведотина (BV) и ниволумабом. Для ниволумаба и BV была продемонстрирована обнадеживающая активность в качестве монотерапевтических средств в лечении рецидивной HL. Поскольку оба лекарственных средства являются эффективными в качестве монотерапевтических средств, возможно, что комбинация может обладать большей эффективностью по сравнению с каждым из средств в отдельности. Клиническое испытание фазы 1/2 для комбинации BV и ниволумаба в настоящее время проводится с участием взрослых с рецидивной/рефрактерной лимфомой Ходжкина после безуспешной терапии первой линии. В этом исследовании пациентов лечили в течение в общей сложности 4 циклов с использованием схемы лечения комбинацией. В целом комбинация хорошо переносилась, причем ни у одного из участников исследования не требовалось прекращения приема дозы вследствие токсичности. Все пациенты перенесли 4 цикла схемы лечения комбинацией. Большая часть нежелательных явлений, включая связанные с иммунитетом нежелательные явления, были низких степеней (1 и 2).

Предварительные результаты свидетельствуют о высокой эффективности схемы лечения при объеме выборки $n = 20$, с долей пациентов с общим объективным ответом 90% и полным метаболическим ответом 62%. Аналогичные данные наблюдали в другом проводимом в настоящее время клиническом испытании. Предварительные данные из клинического испытания E4412 с объемом выборки ($N=10$) с участием пациентов с рецидивным/рефрактерным заболеванием продемонстрировали ORR 100% и CR 63%. Несмотря на то, что исследования все еще продолжаются, а выборки являются небольшими, предварительные данные позволяют предположить, что схема лечения является эффективной и переносимой в популяции пациентов с высокой неудовлетворенной потребностью, у которых наблюдается рефрактерное заболевание.

Поэтому предполагается, что комбинированная терапия потенциально может быть более эффективной в условиях терапии спасения, чем введение каждого из средств отдельно. Комбинация может обеспечить проявление более высокой клинической пользы, что может обуславливать улучшенный контроль заболевания в популяции пациентов, в которой исход является неблагоприятным. Более того, оба средства хорошо переносятся, характеризуются несколькими перекрывающимися профилями токсичности и их можно вводить в виде инфузии в амбулаторных условиях.

Исследуемая популяция.

Мужчины и женщины в возрасте 18 лет и выше с рецидивной/рефрактерной cHL, и одно из следующего:

а) пациенты, неподходящие для аутологичной трансплантации стволовых клеток (ASCT).

Резистентное к химиотерапии заболевание (невозможно достичь CR или PR с помощью химиотерапии спасения) или любое значимое сопутствующее патологическое состояние (нарушение функции сердечно-сосудистой системы, почек, легких или печени), вероятно, оказывают отрицательное воздействие на переносимость ASCT. Примечание: Перед рандомизацией требуется рассмотрение спонсором и утверждение участниками исследования в возрасте <65 лет, которые не являются кандидатами на ASCT. Участники исследования должны были пройти по меньшей мере 2 предшествующие схемы химиотерапии (BV может быть включен в качестве одной схемы).

б) Пациенты после безуспешной ASCT:

подтвержденное отсутствие CR через 90 дней после инфузии стволовых клеток для самой последней ASCT подтвержденное рецидивное заболевание (после CR) или прогрессирование заболевания (после PR или SD).

В случае как а), так и б), участники исследования, которые ранее не получали BV, или у которых наблюдается чувствительность к самому последнему лечению BV, являются подходящими. У участников исследования должна наблюдаться чувствительность к BV, как определено по подтвержденным PR или CR после самого последнего лечения BV и по отсутствию прогрессирования заболевания в ходе самого последнего лечения BV или отсутствию раннего рецидива в пределах 3 месяцев после введения последней дозы самого последнего лечения BV, на основе истории болезни. В случае б), предшествующее лечение BV могло проводиться в качестве монотерапии или в комбинации с химиотерапией, и могло иметь место в рамках любой линии терапии (например, индукционной, спасительной или консолидационной после ASCT). Следует отметить, что подтверждение ответа после консолидационной терапии BV не требуется, поскольку предполагается, что пациенты на момент консолидации находятся на стадии ремиссии.

Другие ключевые критерии включения предусматривают ECOG PS 0-1 и подтверждение сНЛ по результатам биопсии перед инициацией применения исследуемого лекарственного средства. Ключевые критерии исключения предусматривают подтвержденную лимфому ЦНС, нодулярный тип НЛ с лимфоидным преобладанием и активный интерстициальный пневмонит или данные по СТ пневмонита 1 степени.

Цели и конечные точки.

Первичные и вторичные цели исследования и конечные точки исследования изложены в таблице 6 ниже. Первичные цели исследования будут определяться по первичной конечной точке в виде PFS, оцениваемой с помощью BICR. Вторичные цели исследования будут определяться по: (1) CRR, ORR, DOR и DOCR, оцениваемым с помощью BICR; (2) PFS, оцениваемой исследователем; и (3) OS.

Таблица 6

Цели/конечные точки

Цели исследования	Конечные точки
Первичные <ul style="list-style-type: none"> Сравнить выживаемость без прогрессирования для 	<ul style="list-style-type: none"> Выживаемость без прогрессирования (PFS): определяется как промежуток

<p>ниволумаба+BV в сравнении с BV на основе оценок BICR</p>	<p>времени от даты рандомизации до наступления смерти или прогрессирования заболевания.</p>
<p>Вторичные</p> <ul style="list-style-type: none"> • Сравнить долю пациентов с полным объективным ответом для ниволумаба+BV в сравнении с BV на основе оценок BICR • Оценить долю пациентов с объективным ответом и продолжительность ответа на основе BICR • Оценить продолжительность полного ответа на основе BICR • Оценить общую выживаемость участников исследования, которых лечили ниволумабом + BV в сравнении с BV • Оценить PFS на основе оценок исследователя 	<ul style="list-style-type: none"> • Доля пациентов с полным объективным ответом (CRR): определяется как доля участников исследования, у которых был достигнут полный ответ (конференция Lugano 2014 год) • Доля пациентов с объективным ответом (ORR): определяется как доля участников исследования, у которых был достигнут полный ответ или частичный ответ (классификация Lugano 2014 год) • Продолжительность ответа или продолжительность полного ответа (DOR или DOCR): определяется как промежуток времени от первого ответа или полного ответа до даты первого объективно подтвержденного прогрессирования, как определено с применением классификации Lugano 2014 года, или до наступления смерти в результате любых причин • Общая выживаемость (OS): определяется как промежуток времени между датой рандомизации и датой смерти. • PFS определяется как изложено выше, однако оценивается исследователем.

Первичную конечную точку в виде PFS на основе оценки BICR будут сравнивать в двух рандомизированных группах посредством двустороннего логарифмический рангового критерия, стратифицированного по тем же факторам, применяемым при рандомизации. Для участников исследования, которые умерли без зарегистрированного прогрессирования, будет считаться, что у них наступало прогрессирование на дату их смерти.

Общий дизайн.

Речь пойдет о рандомизированном 1:1 открытом исследовании фазы 3, проводимом с участниками исследования в возрасте ≥ 18 лет с запущенной cHL, у которых наблюдался рецидив, рефрактерность за-

болевания, или которые не подходят для аутологичной трансплантации стволовых клеток (ASCT). Пациенты путем сбалансированной рандомизации будут распределены в 2 группы в соответствии с предшествующими видами терапии. Примерно 340 участников исследования будут лечить в составе одной из двух групп: (1) ниволумаб 360 мг IV каждые 3 недели до тех пор, пока не возникнет прогрессирование или неприемлемая токсичность (за исключением пациентов в CR, которые могут прекратить лечение через 2 года) и BV 1,8 мг/кг IV каждые 3 недели в течение 16 циклов, или до тех пор, пока не возникнет прогрессирование или неприемлемая токсичность, в зависимости от того, что наступит первым, или (2) BV отдельно 1,8 мг/кг каждые 3 недели в течение 16 циклов, или до тех пор, пока не возникнет прогрессирование или неприемлемая токсичность, в зависимости от того, что наступит первым. Лечение может также быть прекращено, если участник исследования удовлетворяет другим критериям прекращения приема исследуемого лекарственного средства, описанным в разделе 8.1 протокола. Получающие ниволумаб участники исследования, у которых достигался CR, могут прекращать лечение после терапии максимальной длительностью 2 года, при условии отсутствия чрезмерной токсичности. Участники исследования могли не получать ранее BV, или могли получать предшествующее лечение BV в качестве монотерапевтического средства или в комбинации в рамках любой линии терапии. Стратификацию при рандомизации будут осуществлять на основе следующих двух факторов: (1) статус в отношении предшествующей ASCT (ДА/НЕТ); (2) предшествующее применение BV (ДА/НЕТ). Участники исследования путем сбалансированной рандомизации будут распределены на основе факторов стратификации на группу.

Участники исследования в пределах 28 дней перед введением первой дозы будут подвержены скрининговым оценкам с целью определения пригодности для включения. Каждый 21-дневный период введения дозы будет составлять цикл.

За любым участником исследования, который прекратил исследуемое лечение до прогрессирования, будут наблюдать в отношении прогрессирования, затем выживаемости, в фазе последующего наблюдения в рамках исследования.

Скринингу будут подвержены примерно 400 участников исследования, а затем, в случае рассчитанной доли не прошедших скрининг пациентов 15%, запланированный объем выборки для этого исследования будет составлять примерно 340 рандомизированных участников исследования. Объем выборки в рамках исследования будет рассчитан для первичной конечной точки эффективности, PFS. PFS будет оценена в отношении эффекта лечения при общем уровне значимости 0,05 (двустороннем) со статистической мощностью 90%.

Определение объема выборки для PFS предусматривает примерно 340 участников исследования, которые будут рандомизированы в группы ниволумаба + BV и BV при соотношении 1:1, т.е. таким образом, что 170 участников исследования будут зачислены в группу ниволумаба + BV, а 170 участников исследования будут зачислены в группу BV. Для сравнения PFS между двумя группами лечения, в исследовании требуется по меньшей мере 187 событий PFS для гарантии того, что двусторонний последовательный критерий с ошибкой первого рода 5% будет характеризоваться статистической мощностью 90% для выявления соотношения моментных рисков (FIR) 0,62, соответствующего медианной PFS 15 в сравнении с 9,3 месяцами для групп ниволумаба + BV и групп BV соответственно.

Формальный промежуточный анализ PFS будет проведен в случае, если наблюдалось по меньшей мере 131 событие PFS (70% конечных событий PFS), и для него также требуется последующее наблюдение в течение минимум 9 месяцев с момента завершения набора (Last Patient First Visit, LPFV).

Если учесть, что скорость набора участников в исследование составляет 10 в месяц, набор займет 30,5 месяцев. Ожидается, что конечный анализ PFS будет проведен спустя 46 месяцев после даты рандомизации первого участника исследования (30,5 месяцев набора в исследование + 15,5 месяцев последующего наблюдения). Такой прогноз основан на предположении, что доля пациентов с выживаемостью без прогрессирования составляет 28% и 45,4% через 24 месяца в группе BV и группе ниволумаба + BV, и лишь немногие случаи будут иметь место спустя два года лечения в обеих группах. Ожидается, что промежуточный анализ PFS будет проведен спустя 40 месяцев после даты рандомизации первого участника исследования.

Для вычислений объема выборки/статистической мощности применяли East версии 6.3.

Группы лечения и продолжительность показаны на фиг. 10. Исследуемое лечение включает (1) рандомизированную экспериментальную группу: ниволумаб (постоянная доза 360 мг) каждые 3 недели до тех пор, пока не возникнет прогрессирование или неприемлемая токсичность, + BV (1,8 мг/кг) каждые 3 недели в течение 16 циклов до тех пор, пока не возникнет прогрессирование или неприемлемая токсичность, в зависимости от того, что наступит первым; и (2) рандомизированную контрольную группу: BV (1,8 мг/кг) каждые 3 недели в течение 16 циклов до тех пор, пока не возникнет прогрессирование или неприемлемая токсичность, в зависимости от того, что наступит первым. Дополнительная информация о препаратах и путях введения для ниволумаба и BV представлена в табл. 7 ниже.

Таблица 7

Исследуемое лекарственное средство		
Лекарственный препарат	Активность	IP/не IP
Раствор ниволумаба (BMS-936558) для инъекций	100 мг (10 мг/мл) и 40 мг (10 мг/мл)	IP
Брентуксимаб ведотин в виде порошка для приготовления раствора для инъекций	50 мг	IP

Другие лекарственные препараты, применяемые в качестве поддерживающего лечения из профилактических, диагностических или терапевтических соображений как компоненты стандартного лечения при данной диагностике, можно рассматривать как не являющиеся экспериментальными.

Пример 4.

Иммунизация BV-уничтоженными клетками лимфомы мыши A20 обеспечивает противоопухолевую защиту.

Клетки лимфомы мыши A20 трансфицировали плазмидными конструкциями, кодирующими TNFRSF8 человека (NM_001243.4) и sgRNA/Cas9 под контролем эндогенного промотора Tnfrsf8 мыши. С помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) получали клональную популяцию клеток A20, которые стабильно экспрессировали CD30 человека, упоминаемые как A20^{hCD30}, с целью обеспечения их восприимчивости к лечению брентуксимабом ведотином.

Клетки A20^{hCD30} культивировали в RPMI 1640 с 10% FBS, 10 mM HEPES, 1 mM пируватом натрия, пенициллином (100 Ед/мл) и стрептомицином (100 мкг/мл). Клетки A20^{hCD30} обрабатывали 1 мкг/мл BV или 100 нМ mc-vc-MMAE в течение 4 дней. Для получения умирающих клеток для иммунизации обработанные клетки A20^{hCD30} наслаивали на Histopaque и центрифугировали при 2000 g в течение 30 минут. Мертвые и умирающие клетки осаждались на дне слоя Histopaque, и жизнеспособность оценивали как <20% живых клеток с помощью теста на вытеснение трипанового синего. Мгновенно замороженные клетки A20^{hCD30} получали путем погружения клеток в жидкий азот на 10 секунд с последующим помещением в воду 37°C до полного размораживания. Процесс замораживания в жидком азоте-размораживания повторяли 5 раз. Мертвые и умирающие клетки A20^{hCD30} ресуспендировали в PBS, и 2×10⁶ клеток путем инъекции вводили в брюшную полость иммунокомпетентных мышей Balb/c. Через 7 дней мыши получали вторую иммунизацию мертвыми и умирающими клетками, полученными аналогичным образом.

Через 14 дней после начальной иммунизации мышам подкожно имплантировали 5×10⁶ клеток A20 дикого типа и отслеживали рост опухоли. Как показано на фиг. 11, у мышей, которых иммунизировали BV-уничтоженными или mc-vc-MMAE-уничтоженными клетками A20^{hCD30}, наблюдали задержку роста опухоли, и у несущих опухоль мышей наблюдали повышенную выживаемость. Поскольку эти эффекты имели место в отсутствие каких-либо вводимых терапевтических препаратов, присутствие клеток, уничтоженных BV или MMAE, было достаточным для формирования длительной защитной иммунологической памяти в отношении последующего прививания лимфомы A20.

Перенос T-клеток обеспечивает защитный иммунитет.

Иммунокомпетентных мышей Balb/c иммунизировали BV-уничтоженными или уничтоженными мгновенным замораживанием клетками A20^{hCD30}, как было описано ранее. Через 16 недель после начальной иммунизации у иммунизированных мышей или интактных мышей Balb/c собирали селезенки, и гомогенизировали вручную. Гомогенаты селезенки объединяли от 4 мышей на иммунизацию, и CD3⁺ T-клетки выделяли с применением набора для обогащения T-клетками мыши EasySep (Stem Cell Technologies). Несущим опухоль из клеток A20 мышам внутривенно вводили 1×10⁶ CD3⁺ T-клеток.

Иммунодефицитным мышам NOD/SCID/c дефицитом γ-цепи (NSG) подкожно имплантировали 4×10⁶ клеток A20 дикого типа. Через 5 дней после имплантации мышей с опухолями ~100 мм³ рандомизировали, и они получали 1×10⁶ T-клеток от мышей, описанных выше. Как показано на фиг. 12A, у мышей NSG, которые получали T-клетки от мышей, иммунизированных BV-уничтоженными клетками, замедлялся рост опухоли, а также повышалось число CD8 T-клеток в пределах опухоли (фиг. 12B). Способность T-клеток обеспечивать сильный противоопухолевый иммунный ответ спустя продолжительное время после иммунизации свидетельствует о том, что гибель опухоли под действием BV вызывает формирование устойчивой иммунологической памяти, опосредуемой T-клетками.

Ингибирование PD-1 потенцирует защитный иммунитет, обеспечиваемый BV.

Мышей Balb/c иммунизировали BV- или MMAE-уничтоженными клетками A20^{hCD30}, как описано выше. Через 14 дней после начальной иммунизации мышам подкожно имплантировали 5×10⁶ клеток A20 дикого типа. В дни 6, 9, 14 и 17 после прививания опухоли из клеток A20 внутривенно вводили антитела к PD-1 мыши (1 мг/кг, BioLegend). Иммунизация BV- или MMAE-уничтоженными клетками A20^{hCD30}

обеспечивала защитный противоопухолевый иммунитет. Как показано на фиг. 13, комбинация с терапией антителами к PD-1 усиливает защитный иммунитет и улучшает устранение опухоли и выживаемость.

Инфильтрация Т-клеток и NK-клеток в аутологичные опухоли в модели гуманизированных мышей.

Мышам NSG подкожно имплантировали трансформированные вирусом Эпштейна-Барр (EBV) лимфобластные клеточные линии (LCL). Когда показатели объема опухоли из LCL достигали 250 мм³, мыши получали одну субоптимальную дозу BV или hIgG-ММАЕ в качестве контроля (1 мг/кг, i.p.). Через три дня после введения дозы 2,0×10⁶ аутологичных мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) подвергали адоптивному переносу мышам посредством инъекции в хвостовую вену. Через одиннадцать дней после переноса PBMC опухоли собирали, взвешивали и разрушали вручную с помощью клеточного фильтра на 70 мкм. После центрифугирования отдельные осадки опухолевых клеток ресуспендировали в 4 мл RPMI +10% FCS и 200 мкл клеточной суспензии применяли для окрашивания и анализа с помощью проточной цитометрии (FACS). Суспензии опухолевых клеток окрашивали красителем для оценки жизнеспособных клеток Zombie Aqua (Biolegend) с последующим окрашиванием мечеными флуоресцентной меткой антителами, нацеленными на CD 19, CD2, CD8, CD4, CD56 человека, CD45, PD-L1, PD-1 человека и CD45.1 мыши (разведение 1:50, Biolegend), в буфере для окрашивания (SB: PBS, 2% FCS, 1% NRS, 0,05% NaN₃) при 4°C в течение 30 минут. Клетки промывали и ресуспендировали в 120 мкл SB для FACS в планшетах с применением проточного цитометра Attune NXT. Все события регистрировали на основе 80 мкл образца, и измеренные с помощью FACS концентрации клеток применяли для расчета количества инфильтрирующих иммунных клеток. CD8⁺ Т-клетки идентифицировали как отрицательные по красителю для оценки жизнеспособности, hCD45⁺, mCD45.1⁻, CD2⁺, CD8⁺ клетки. NK-клетки идентифицировали как отрицательные по красителю для оценки жизнеспособности, hCD45⁺, mCD45.1⁻, CD2⁺, CD56⁺ клетки. На фиг. 14А представлены рассчитанные количества клеток относительно опухолевой массы, или, в качестве альтернативы, в виде рассчитанного общего количества клеток (фиг. 14В). На фиг. 14С показаны CD8⁺ Т-клетки, выделенные из опухолей, в которых на высоких уровнях экспрессируется PD-1, и опухолевые клетки LCL, экспрессирующие PD-L1 на повышенных уровнях, по сравнению с их аналогами в виде покоящихся/нормальных PBMC (фиг. 14D). Обработка мышей с развившимися опухолями из LCL субоптимальной дозой BV обеспечивала усиленное внутриопухолевое накопление цитотоксических клеток человека, что соответствует индукции противоопухолевого воспалительного ответа.

BV усиливает иммуноопосредованное устранение опухоли отдельно и в комбинации с ниволумабом в модели опухоли из гуманизированных LCL.

Мышам NSG подкожно имплантировали трансформированные вирусом Эпштейна-Барр (EBV) лимфобластные клеточные линии (LCL). Когда показатели объема опухоли из LCL достигали 250 мм³, мыши получали одну субоптимальную дозу BV или hIgG-ММАЕ в качестве контроля (1 мг/кг, i.p.). Через три дня после введения дозы 2×10⁶ аутологичных PBMC подвергали адоптивному переносу мышам посредством инъекции в хвостовую вену. Через 2 и 7 дней после адоптивного переноса PBMC мыши получали две дозы ниволумаба (10 мг/кг, i.p.) На фиг. 15А показано изменение объема опухоли в группе обработки в динамике по сравнению с необработанным (без лекарственного средства) контролем. Следует отметить, что у мышей, получающих субоптимальную дозу BV без добавления PBMC (сплошная линия, сверху), опухоли не отторгались, и их выводили из исследования, когда объем опухоли превышал 2000 мм³. Все группы обработки получали аутологичные PBMC, и у них наблюдали регрессию опухоли, что указывает на роль иммуноопосредованного устранения опухоли в этой модели. Одна субоптимальная доза BV, введенная за 3 дня до переноса PBMC, обеспечивала усиленное иммуноопосредованное устранение опухоли, по сравнению с мышами, получающими контроль hIgG-ММАЕ или ниволумаб отдельно. Важно отметить, что у мышей любой группы обработки, получающих комбинацию BV и ниволумаба, наблюдали наиболее быстрое устранение опухоли. Значимость этих различий отражается в сравнении средних значений объема опухоли ко дню 50, в ходе активного устранения опухоли (фиг. 15В). В совокупности результаты, полученные из этой модели на основе гуманизированных клеток, подтверждают заключение о том, что помимо прямого уничтожения опухолевых клеток BV управляет воспалительным ответом, который усиливает иммуноопосредованную клеточную цитотоксичность и хорошо сочетается в паре с ниволумабом.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения субъекта, страдающего от опухоли, происходящей из неходжкинской лимфомы, или опухоли, происходящей из лимфомы Ходжкина, включающий введение субъекту:

а) ниволумаба в дозе 3 мг/кг; и

б) брентуксимаба ведотина в дозе 1,8 мг/кг;

причем (i) доза брентуксимаба ведотина вводится субъекту-человеку в день 1 первого 21-дневного цикла; и (ii) доза ниволумаба вводится субъекту-человеку в день 8 первого 21-дневного цикла.

2. Способ по п.1, где (i) неходжкинская лимфома представляет собой рецидивную или рефрактерную неходжкинскую лимфому; (ii) неходжкинская лимфома выбрана из диффузной В-крупноклеточной

лимфомы (DLBCL), периферической Т-клеточной лимфомы (PTCL), кожной Т-клеточной лимфомы (CTCL) и любой их комбинации; (iii) лимфома Ходжкина представляет собой классическую лимфому Ходжкина (сНЛ); или (iv) лимфома Ходжкина представляет собой рецидивную или рефрактерную лимфому Ходжкина, необязательно рецидивную НЛ после аутологичной трансплантации стволовых клеток (ASCT) или рецидивную НЛ у пациента, неподходящего для ASCT.

3. Способ по п.1 или 2, где лимфома Ходжкина представляет собой классическую лимфому Ходжкина (сНЛ).

4. Способ по п.1, где неходжкинская лимфома выбрана из группы, состоящей из диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), периферической Т-клеточной лимфомы (PTCL), кожной Т-клеточной лимфомы (CTCL) и любой их комбинации.

5. Способ по любому из пп.1-4, где опухоль содержит одну или несколько клеток, которые экспрессируют CD30.

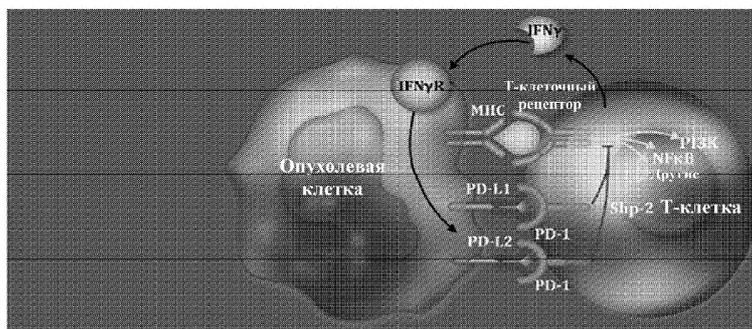
6. Способ по п.5, где по меньшей мере 0,1% опухолевых клеток экспрессируют CD30.

7. Способ по любому из пп.1-6, где комбинация 1,8 мг/кг брентуксимаба ведотина и 3 мг/кг ниволумаба вводится в день 1 каждого из второго 21-дневного цикла, третьего 21-дневного цикла и четвертого 21-дневного цикла, где второй 21-дневный цикл, третий 21-дневный цикл и четвертый 21-дневный цикл следуют по порядку после первого 21-дневного цикла.

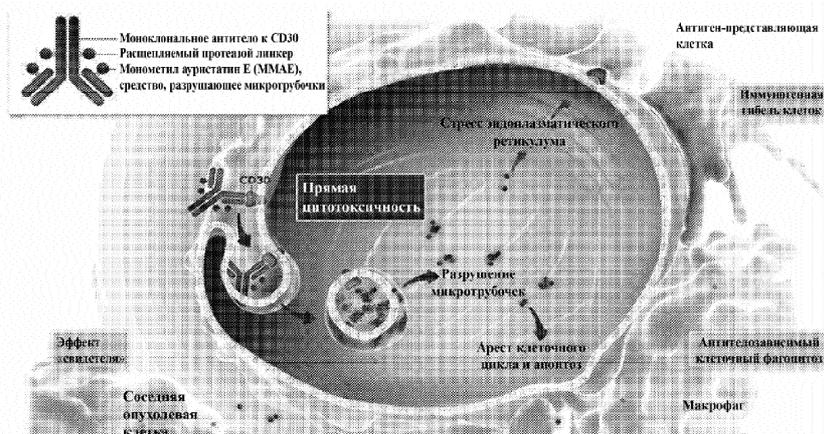
8. Способ по любому из пп.1-7, где ниволумаб и брентуксимаб ведотин вводятся последовательно.

9. Способ по любому из пп.1-8, где опухоль содержит одну или несколько клеток, которые экспрессируют PD-L1, PD-L2 или как PD-L1, так и PD-L2.

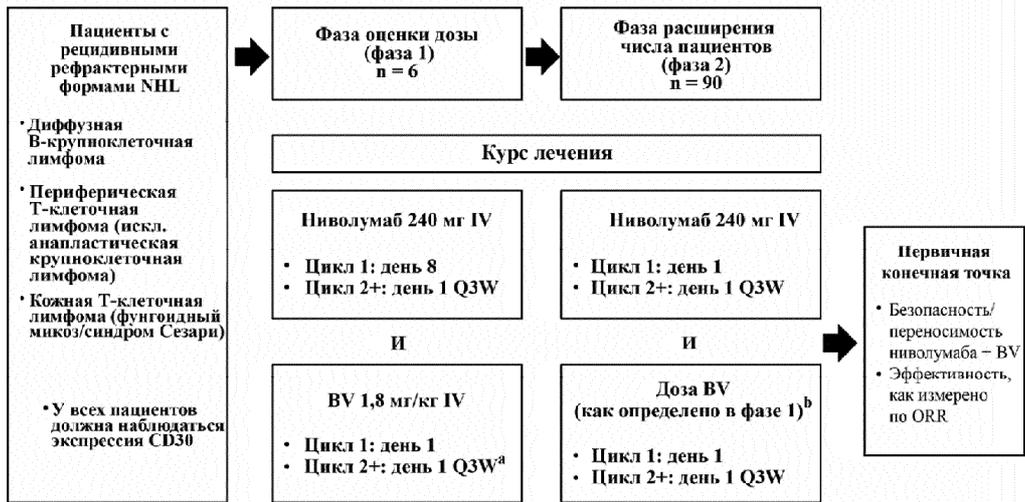
10. Способ по любому из пп.1-9, где у субъекта наблюдается выживаемость без прогрессирования в течение по меньшей мере одного месяца, по меньшей мере 2 месяцев, по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 4 месяцев, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере одного года, по меньшей мере восемнадцати месяцев, по меньшей мере двух лет, по меньшей мере трех лет, по меньшей мере четырех лет или по меньшей мере пяти лет после начального введения.



Фиг. 1



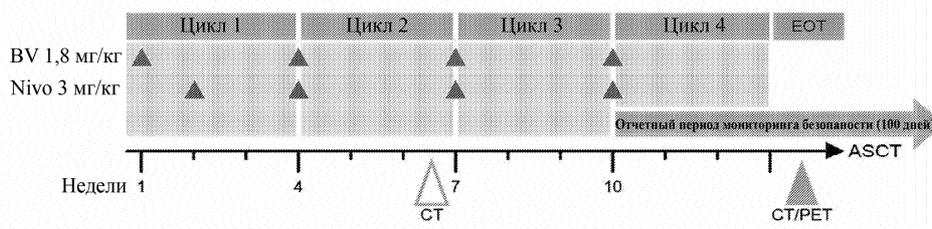
Фиг. 2



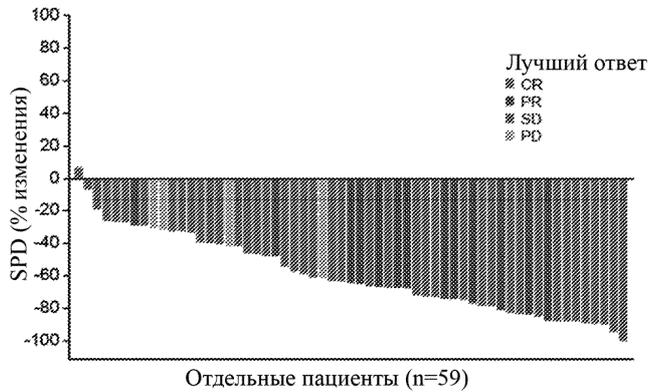
^aДоза ВВ в пределах цикла 2+ может быть снижена до 1,2 мг/кг, если наблюдается DLT.

^bЕсли в фазе 1 DLT переносят <1 пациента, пациентам когорты в фазе 2 будут давать ВВ 1,8 мг/кг. Если DLT переносят >2 пациентов, будут вводить сниженную дозу ВВ 1,2 мг/кг. DLT = дозозимитирующая токсичность; Q3W = каждые 3 недели

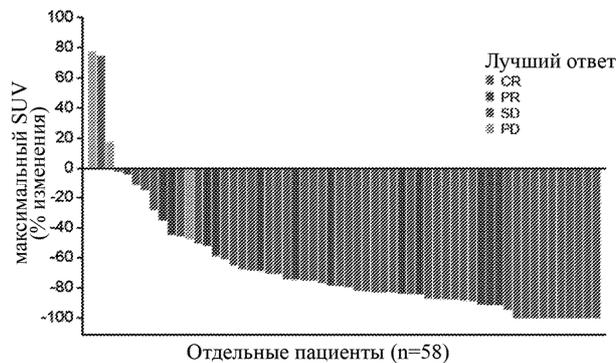
Фиг. 3



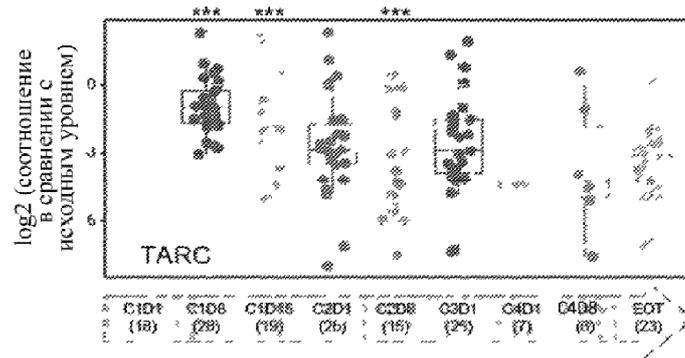
Фиг. 4



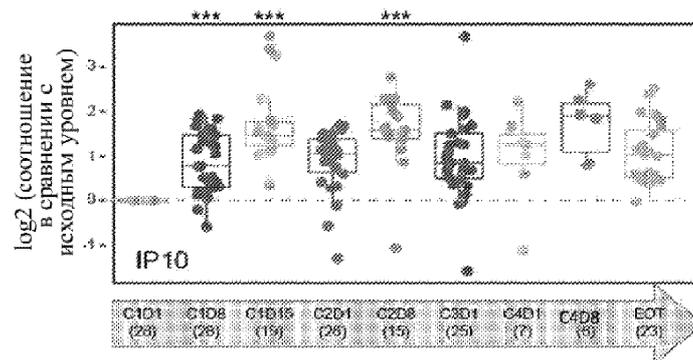
Фиг. 5А



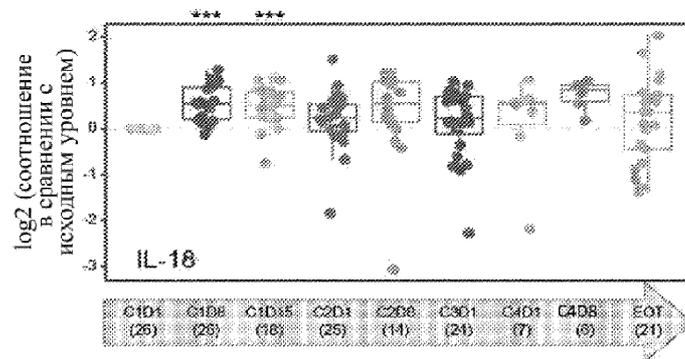
Фиг. 5В



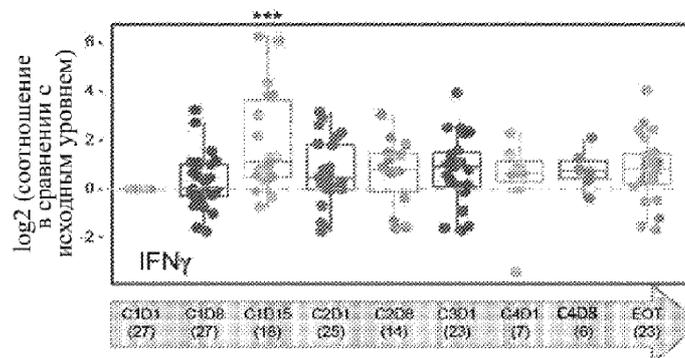
Фиг. 6А



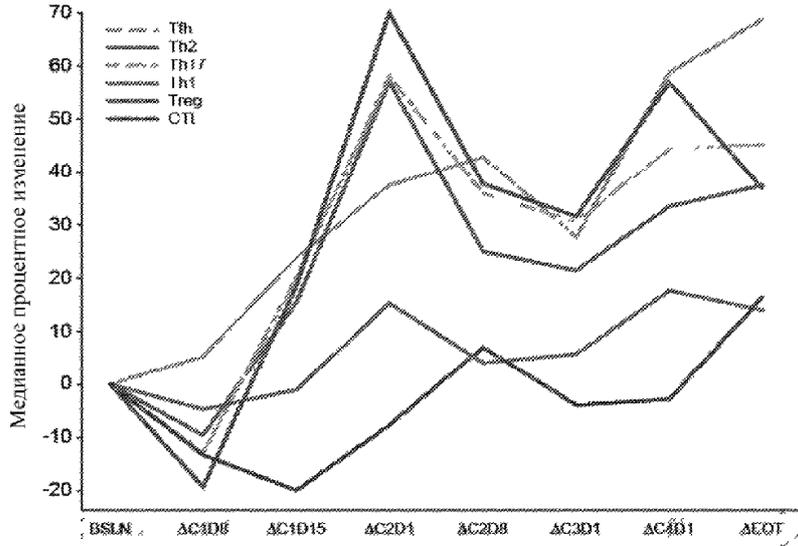
Фиг. 6Е



Фиг. 6С

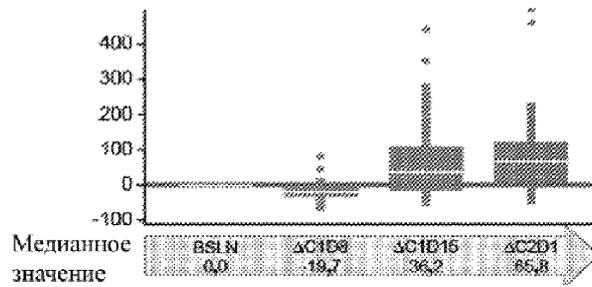


Фиг. 6D



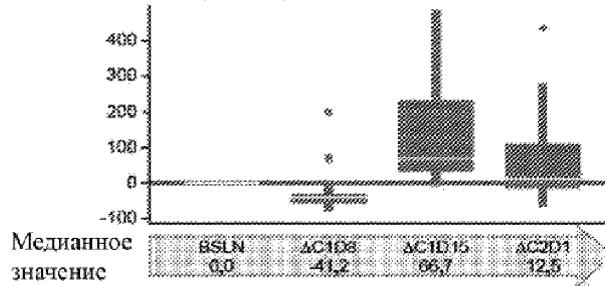
Фиг. 7А

Процентное изменение количества активированных CD4+ Т-клеток

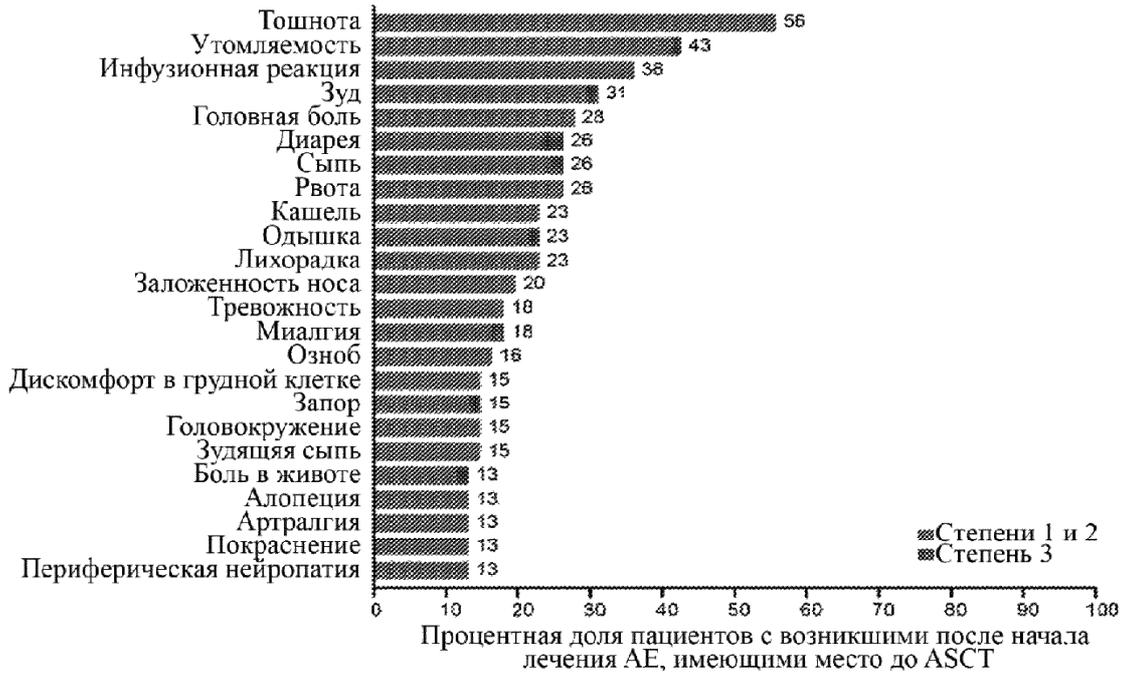


Фиг. 7В

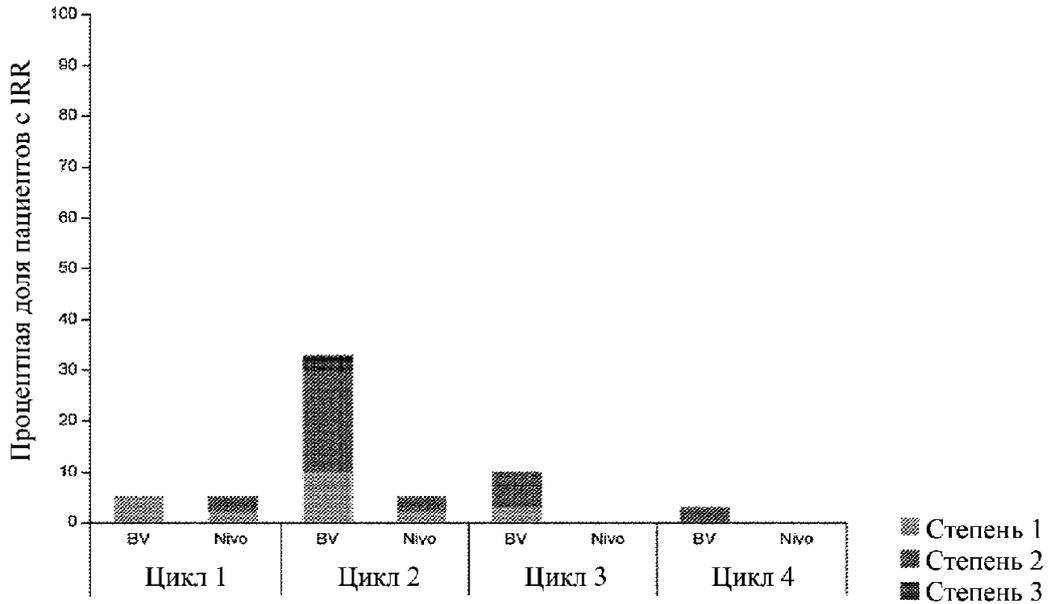
Процентное изменение количества делящихся CD4+ Т-клеток



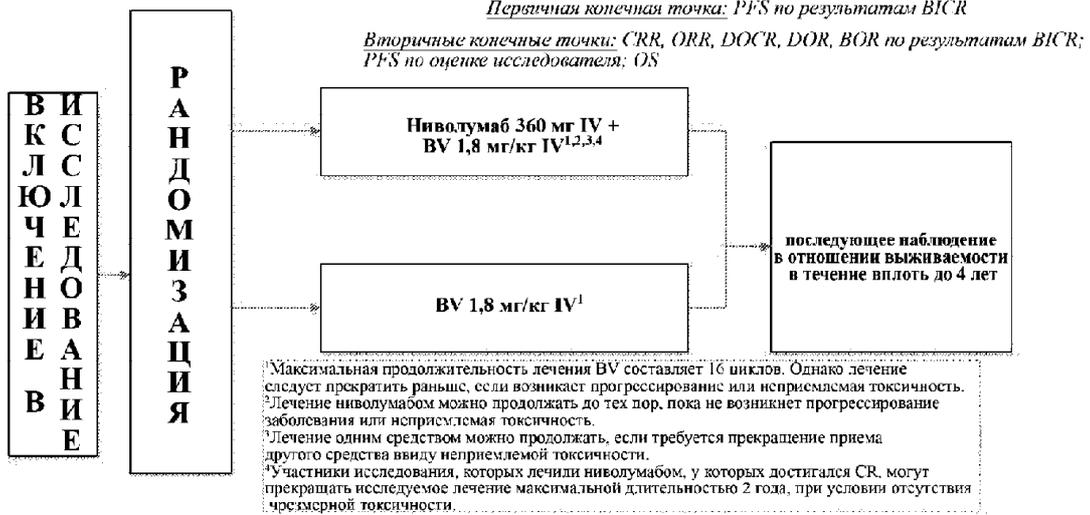
Фиг. 7С



Фиг. 8

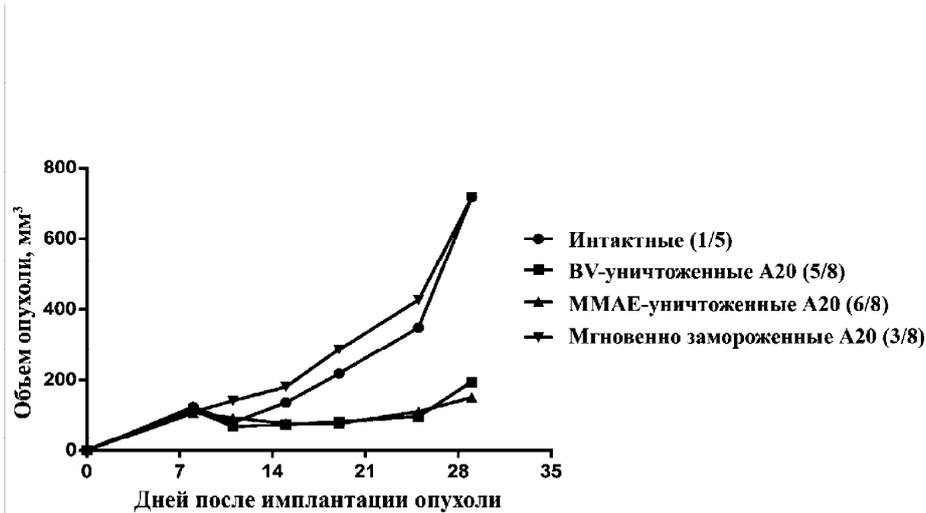


Фиг. 9

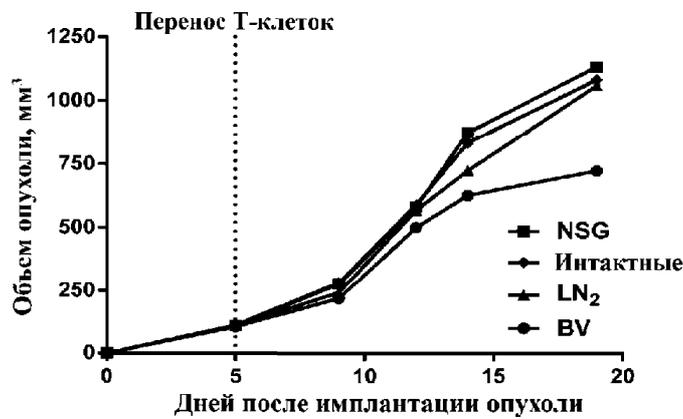


Сокращения: BV = брентуксимаб ведотин; BICR = независимая центральная оценка в слепом режиме; PFS = выживаемость без прогрессирования; CRR = доля пациентов с полным объективным ответом; OS = общая выживаемость; ORR = доля пациентов с объективным ответом; DOCR = продолжительность полного ответа; DOR = продолжительность ответа; BOR = лучший общий ответ

Фиг. 10

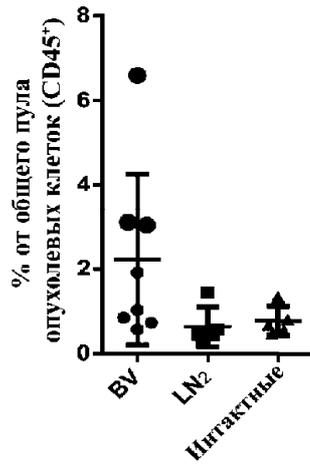


Фиг. 11

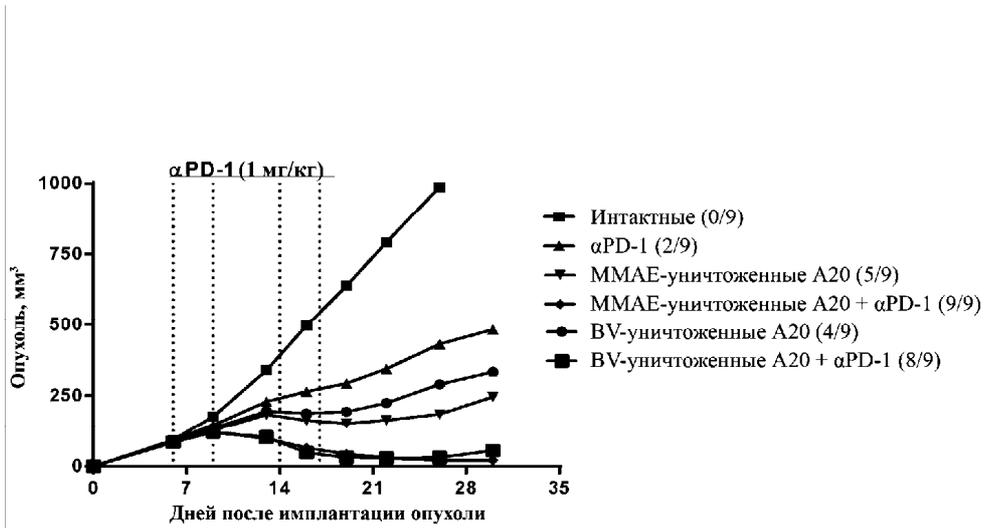


Фиг. 12А

Внутриопухолевые CD8

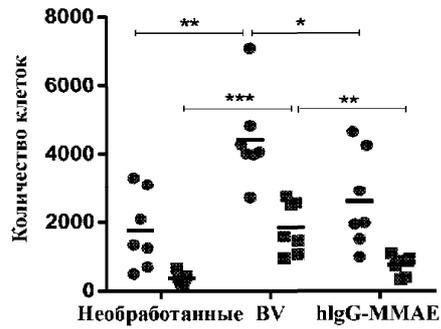


Фиг. 12В



Фиг. 13

Клеток/100 мг опухоли

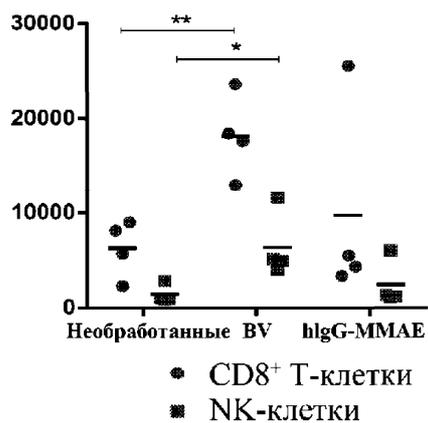


● CD8⁺ T-клетки

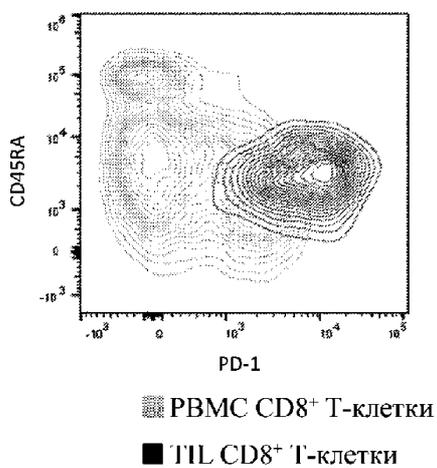
■ НК-клетки

Фиг. 14А

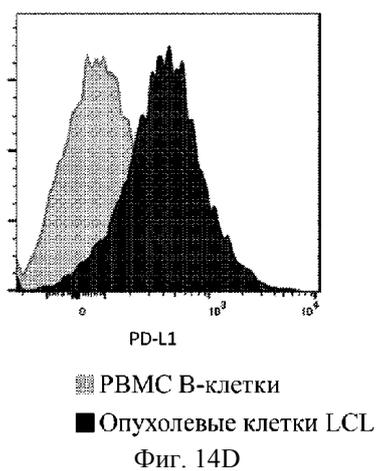
Общий пул клеток



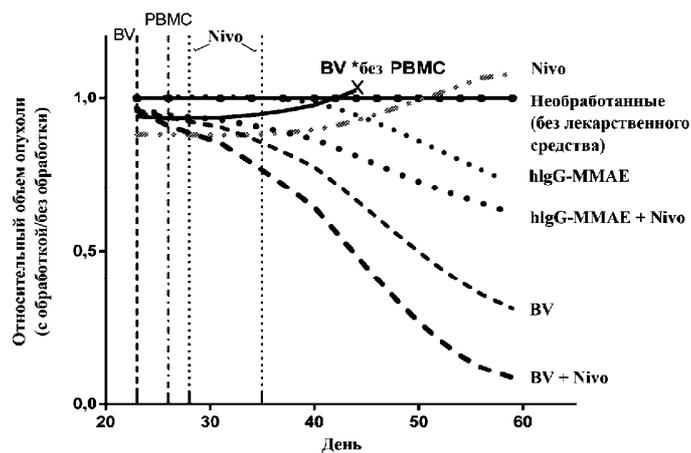
Фиг. 14В



Фиг. 14С



Фиг. 14D



Группа	День 50, среднее значение +/- SEM объем опухоли (мм ³)	р-значения (односторонний критерий Стьюдента)				
		Необработанные	hIgG-MMAE	Ниволумаб	hIgG-MMAE + Nivo	BV
Необработанные	694 +/- 77					
hIgG-MMAE	669 +/- 154	0,44				
Ниволумаб	792 +/- 68	0,19	0,23			
hIgG-MMAE + Nivo	531 +/- 81	0,09	0,21	0,02		
BV	345 +/- 95	0,008	0,05	0,003	0,08	
BV + Nivo	160 +/- 49	0,0001	0,003	0,0001	0,002	0,06

Фиг. 15В

