

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490263 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.09.30

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.10.18

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ МЕЛАНОМЫ

(31) 62/748,089

(32) 2018.10.19

(33) US

(62) 202191086; 2019.10.18

(71) Заявитель:
БРИСТОЛЬ-МЕЙЕРЗ СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Маурер Мэтью, Симонсен Кэйти Л.
(US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к способу лечения ранее не подвергаемой лечению метастазирующей или нерезектабельной меланомы.

A1

202490263

202490263

A1

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ МЕЛАНОМЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке США № 62/748089, поданной 19 октября 2018 года, которая включена в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Изобретение, описанное в настоящем описании, относится к способам лечения метастазирующей и нерезектабельной меланомы у пациента-человека посредством комбинации ингибитора LAG-3 и ингибитора каскада PD-1.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОМУ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0003] Ген активации лимфоцитов 3 (LAG-3; CD223) представляет собой трансмембранный белок типа I, который экспрессируется на клеточной поверхности активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и подгрупп NK и дендритных клеток (Triebel F, *et al.*, *J. Exp. Med.* 1990; 171:1393-1405; Workman C J, *et al.*, *J. Immunol.* 2009; 182(4):1885-91). LAG-3 является близкородственным для CD4, который является корецептором для активации Т-хелперных клеток. Обе молекулы имеют 4 внеклеточных Ig-подобных домена и связываются с основным комплексом гистосовместимости (МНС) класса II. В противоположность CD4, LAG-3 экспрессируется только на клеточной поверхности активированных Т-клеток, и его отщепление от клеточной поверхности завершает передачу сигнала LAG-3. LAG-3 также может встречаться в качестве растворимого белка, однако его функция неизвестна.

[0004] PD-1 представляет собой рецептор передачи сигнала на клеточной поверхности, который играет ключевую роль в регуляции активации и толерантности Т-клеток (Keir M E, *et al.*, *Annu Rev Immunol* 2008; 26:677-704). Он представляет собой трансмембранный белок типа I и вместе с BTLA, CTLA-4, ICOS и CD28, составляет семейство CD28 Т-клеточных костимулирующих рецепторов. PD-1 в основном экспрессируется на активированных Т-клетках, В-клетках и миелоидных клетках (Dong H, *et al.*, *Nat Med.* 1999; 5:1365-1369). Он также экспрессируется на натуральных киллерах (NK) (Terme M, *et al.*, *Cancer Res* 2011; 71:5393-5399). Связывание PD-1 посредством его лигандов, PD-L1 и PD-L2, приводит к фосфорилированию остатка тирозина в проксимальном внутриклеточном иммунорецепторном тирозинсодержащем ингибиторном домене, с последующим привлечением фосфатазы SHP-2, что в конечном итоге приводит к подавлению активации Т-клеток. Одной важной ролью PD-1 является ограничение активности Т-клеток в периферических тканях во время воспалительного ответа на инфекцию, таким образом, ограничивая развитие аутоиммунитета (Pardoll D M., *Nat Rev Cancer* 2012; 12:252-264). Доказательство этой отрицательной регуляторной роли стало результатом открытия, что у мышей с дефицитом PD-1 развиваются волчаночноподобные аутоиммунные заболевания, включающие артрит и нефрит, а также кардиомиопатию (Nishimura H, *et al.*, *Immunity*, 1999; 11:141-151; и Nishimura H, *et al.*,

Science, 2001; 291:319-322). PD-1 экспрессируется на инфильтрирующих опухоль лимфоцитах, и уровень его лигандов повышается на клеточной поверхности многих различных типов клеток (Dong H, *et al.*, *Nat Med* 2002; 8:793-800). Во множестве моделей злокачественной опухоли на мышах было продемонстрировано, что связывание лиганда с PD-1 приводит к иммунному ускользанию. Кроме того, блокада этого взаимодействия приводит к противоопухолевой активности (Toralian S L, *et al.* *NEJM* 2012; 366(26):2443-2454; Hamid O, *et al.*, *NEJM* 2013; 369:134-144). Более того, было показано, что ингибирование взаимодействия PD-1/PD-L1 опосредует мощную противоопухолевую активность в доклинических моделях (патенты США № 8008449 и 7943743).

[0005] Задачей настоящего изобретения является предоставление усовершенствованных способов лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста опухоли метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антагониста LAG-3; и (b) ингибитора каскада PD-1; где пациенту не проводили предшествующее лечение метастазирующей меланомы.

[0007] Дополнительный аспект изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антагониста LAG-3; и (b) ингибитора каскада PD-1; где пациенту еще не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы.

[0008] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста нерезектабельной опухоли меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антагониста LAG-3; и (b) ингибитора каскада PD-1; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы.

[0009] Другой аспект изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной опухоли меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антагониста LAG-3; и (b) ингибитора каскада PD-1; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы.

[0010] В определенных вариантах осуществления пациенту проводили предшествующее лечение, когда меланома была локально развернутой, где предшествующее лечение представляло собой адъювантную или неоадъювантную терапию, направленную против PD-1 или против CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет гистологически подтвержденную нерезектабельную меланому стадии III или IV. В определенных вариантах осуществления пациент имеет показатель общего состояния в соответствии с Восточной кооперативной онкологической

группой (ECOG) 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет поддающееся определению заболевание при определении посредством критериев оценки ответа солидных опухолей (RECIST) версии 1.1.

[0011] В определенных вариантах осуществления инфильтрирующие опухоль лимфоциты пациента экспрессируют LAG-3. В конкретных вариантах осуществления более 1% инфильтрирующих опухоль лимфоцитов пациента экспрессируют LAG-3. В определенных вариантах осуществления экспрессию LAG-3 определяют в тестируемом образце ткани, полученном посредством биопсии опухоли. В определенных вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой фиксированный формалином залитый парафином (FFPE) образец. В некоторых вариантах осуществления экспрессию LAG-3 определяют посредством определения экспрессии белка или РНК в тестируемом образце ткани. В определенных вариантах осуществления экспрессию LAG-3 определяют посредством анализа, способного определять уровень белка LAG-3 в тестируемом образце ткани. В других вариантах осуществления экспрессию LAG-3 определяют посредством иммуногистохимического анализа. В определенных вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ. В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ. В определенных вариантах осуществления иммуногистохимический анализ включает приведение образца опухоли в контакт с моноклональным антителом против LAG-3 человека 17B4, SP346, 11E3, 874501 или EPR4392(2).

[0012] В некоторых вариантах осуществления опухолевые клетки пациента экспрессируют PD-L1. В определенных вариантах осуществления более 1% опухолевых клеток пациента экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют в тестируемом образце ткани, полученном посредством биопсии опухоли. В определенных вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой фиксированный формалином залитый парафином (FFPE) образец. В конкретных вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют посредством измерения экспрессии белка или РНК в тестируемом образце ткани. В некоторых вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют посредством анализа, способного определять уровень белка PD-L1 в тестируемом образце ткани. В определенных вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют посредством иммуногистохимического анализа. В конкретных вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ. В других вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ.

[0013] В определенных вариантах осуществления клетки опухоли пациента имеют мутацию BRAF V600.

[0014] В некоторых вариантах осуществления антагонист LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3. В определенных вариантах осуществления антитело

против LAG-3 представляет собой полноразмерное антитело. В конкретных вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело человека, гуманизированное, химерное или мультиспецифическое антитело. В определенных вариантах осуществления мультиспецифическое антитело представляет собой перенацеливающее антитело с двойной аффинностью (DART), DVD-Ig или биспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой F(ab')₂-фрагмент, Fab'-фрагмент, Fab-фрагмент, Fv-фрагмент, scFv-фрагмент, dsFv-фрагмент, dAb-фрагмент или одноцепочечный связывающий полипептид. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016, IMP731 (H5L7BW), MK-4280 (28G-10), REGN3767, GSK2831781, гуманизированное BAP050, IMP-701 (LAG-525), aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmAb22841, MGD013, BI754111, FS118, P 13B02-30 или AVA-017. В конкретных вариантах осуществления антагонист LAG-3 представляет собой IMP321.

[0015] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7; (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8; (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 9; (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 10; (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 11; и (f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 12. В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит вариательные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 3 и 5, соответственно. В конкретных вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно.

[0016] В некоторых вариантах осуществления ингибитор каскада PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или против PD-L1. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 выбрано из группы, состоящей из: ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, PDR001, MEDI0680, TSR-042, REGN2810, JS001, PF-06801591, BGB-A317, BI 754091 и SHR-1210. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления антитело против PD-

1 содержит (a) CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19; (b) CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 20; (c) CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21; (d) CDR1 вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 22; (e) CDR2 вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 23; и (f) CDR3 вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит вариабельные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 15 и 17, соответственно. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно.

[0017] В некоторых вариантах осуществления вводят комбинацию с фиксированной дозой антитела против LAG-3 или антагониста LAG-3 и антитела против PD-1. В определенных вариантах осуществления способ включает по меньшей мере один курс введения, где курс представляет собой период из четырех недель, и где для каждого из по меньшей мере одного курса одна доза антитела против LAG-3 или его антагониста составляет 160 мг и одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг.

[0018] В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 или его антагонист и антитело против PD-1 составляют для внутривенного введения. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 или его антагонист и антитело против PD-1 составляют вместе. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 или его антагонист и антитело против PD-1 составляют по отдельности.

[0019] Один из аспектов изобретения, описанный в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (a) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы.

[0020] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (a) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3

вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы.

[0021] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (a) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы.

[0022] Другой аспект изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (a) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы.

[0023] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (a) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение

метастазирующей меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0024] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0025] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0026] Дополнительный аспект изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили

предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0027] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста метастазирующей меланомы у взрослого пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 2 мг/кг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 6 мг/кг, каждые четыре недели.

[0028] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей меланомы у взрослого пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 2 мг/кг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 6 мг/кг, каждые четыре недели.

[0029] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста нерезектабельной меланомы у взрослого пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (b) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID

NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 2 мг/кг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 6 мг/кг, каждые четыре недели.

[0030] Другой аспект изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у взрослого пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (б) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 2 мг/кг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 6 мг/кг, каждые четыре недели.

[0031] В некоторых вариантах осуществления возраст пациента составляет или более лет. В определенных вариантах осуществления возраст пациента составляет от 12 до 17 лет. В конкретных вариантах осуществления предшествующее системное лечение представляет собой адьювантную или неоадьювантную терапию против PD-1 или против CTLA-4. В других вариантах осуществления пациент имеет гистологически подтвержденную нерезектабельную меланому стадии III или IV. В определенных вариантах осуществления пациент имеет показатель общего состояния в соответствии с Восточной кооперативной онкологической группой (ECOG) 0 или 1 и/или показатель общего состояния по Лански 80% или более. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет поддающееся определению заболевание при определении посредством критериев оценки ответа солидных опухолей (RECIST) версии 1.1.

[0032] В некоторых вариантах осуществления инфильтрирующие опухоль пациента лимфоциты экспрессируют LAG-3. В определенных вариантах осуществления более 1% опухолевых клеток пациента экспрессируют LAG-3. В определенных вариантах осуществления экспрессию LAG-3 определяют в тестируемом образце ткани, полученном посредством биопсии опухоли. В одном варианте осуществления тестируемый образец ткани представляет собой фиксированный формалином залитый парафином (FFPE) образец. В определенных вариантах осуществления экспрессию LAG-3 определяют посредством измерения экспрессии белка или РНК в тестируемом образце ткани. В некоторых вариантах осуществления экспрессию LAG-3 определяют посредством анализа, способного определять уровень белка LAG-3 в тестируемом образце ткани. В определенных вариантах осуществления экспрессию LAG-3 определяют посредством иммуногистохимического анализа. В некоторых вариантах осуществления

иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ. В других вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ. В конкретных вариантах осуществления иммуногистохимический анализ включает приведение опухолевого образца в контакт с моноклональным антителом против LAG-3 человека 17B4, SP346, 11E3, 874501 или EPR4392(2).

[0033] В некоторых вариантах осуществления опухолевые клетки пациента экспрессируют PD-L1. В определенных вариантах осуществления более 1% опухолевых клеток пациента экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют в тестируемом образце ткани, полученном посредством биопсии опухоли. В определенных вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой фиксированный формалином залитый парафином (FFPE) образец. В конкретных вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют посредством измерения экспрессии белка или РНК в тестируемом образце ткани. В некоторых вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют посредством анализа, способного определять уровень белка PD-L1 в тестируемом образце ткани. В определенных вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют посредством иммуногистохимического анализа. В конкретных вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ. В определенных вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ. В некоторых вариантах осуществления опухолевые клетки пациента имеют мутацию BRAF V600.

[0034] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает: (a) определение экспрессии LAG-3 на инфильтрирующих опухоль пациента лимфоцитах, экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках пациента, и/или определение присутствия мутации BRAF V600 в опухолевых клетках пациента; и (b) введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы.

[0035] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает: (a) определение экспрессии LAG-3 на инфильтрирующих опухоль

пациента лимфоцитах, экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках пациента, и/или определение присутствия мутации BRAF V600 в опухолевых клетках пациента; и (b) введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы.

[0036] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает: (a) определение экспрессии LAG-3 на инфильтрирующих опухоль пациента лимфоцитах, экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках пациента, и/или определение присутствия мутации BRAF V600 в опухолевых клетках пациента; и (b) введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы.

[0037] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает: (a) определение экспрессии LAG-3 на инфильтрирующих опухоль пациента лимфоцитах, экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках пациента, и/или определение присутствия мутации BRAF V600 в опухолевых клетках пациента; и (b) введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы.

[0038] Другой аспект изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает: (а) определение экспрессии LAG-3 на инфильтрирующих опухоль пациента лимфоцитах, экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках пациента, и/или определение присутствия мутации BRAF V600 в опухолевых клетках пациента; и (b) введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0039] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает: (а) определение экспрессии LAG-3 на инфильтрирующих опухоль пациента лимфоцитах, экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках пациента, и/или определение присутствия мутации BRAF V600 в опухолевых клетках пациента; и (b) введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0040] Другой аспект изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу ингибирования роста нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает: (а) определение экспрессии LAG-3 на инфильтрирующих опухоль пациента лимфоцитах, экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках пациента, и/или определение присутствия мутации BRAF V600 в опухолевых клетках пациента; и (b) введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3

вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0041] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает: (a) определение экспрессии LAG-3 на инфильтрирующих опухоль пациента лимфоцитах, экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках пациента, и/или определение присутствия мутации BRAF V600 в опухолевых клетках пациента; и (b) введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0042] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и (ii) антитела против PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17; где пациенту не проводили предшествующее лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 представляют собой лечение первой линии.

[0043] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании,

относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7; (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8; (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 9; (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 10; и (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 11, и (ii) антитела против PD-1, содержащего (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19; (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 20; (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21; (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 22; (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 23; и (f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 24, где пациенту не проводили предшествующее лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели. В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в качестве лечения первой линии.

[0044] В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем описании, антитело против LAG-3 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 30 и 2, соответственно.

[0045] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из релатлимаба и ниволумаба, где пациенту не проводили предшествующее лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза релатлимаба составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза ниволумаба составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0046] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 30 и 2, соответственно, и (ii) антитела против PD-1, содержащего последовательности, указанные в SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно, где пациенту не проводили предшествующее лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0047] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из релатлимаба и ниволумаба, где пациенту не проводили предшествующее лечение метастазирующей меланомы; и где по меньшей мере одна доза релатлимаба составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза ниволумаба составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0048] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 30 и 2, соответственно, и (ii) антитела против PD-1, содержащего последовательности, указанные в SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно, где пациенту не проводили предшествующее лечение метастазирующей меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0049] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из релатлимаба и ниволумаба, где пациенту не проводили предшествующее лечение нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза релатлимаба составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза ниволумаба составляет 480 мг, каждые четыре недели. Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к способу лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (i) антитела против LAG-3, содержащего тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 30 и 2, соответственно, и (ii) антитела против PD-1, содержащего последовательности, указанные в SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно, где пациенту не проводили лечение метастазирующей или нерезектабельной меланомы; и где по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет 160 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет 480 мг, каждые четыре недели.

[0050] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к продукту, содержащему релатлимаб и ниволумаб для комбинированного применения для лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека, которому не проводили предшествующего лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы; где лечение включает введение по меньшей мере одной дозы релатлимаба, составляющей 160 мг и по меньшей мере одной дозы ниволумаба в дозе 480 мг, каждые четыре недели.

[0051] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к продукту, содержащему антитело против LAG-3, содержащее тяжелую и

легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 30 и 2, соответственно, и антитело против PD-1, содержащее последовательности, указанные в SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно для комбинированного применения для лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека, которому не проводили предшествующего лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы; где лечение включает введение по меньшей мере одной дозы антитела против LAG-3, составляющей 160 мг, и по меньшей мере одной дозы антитела против PD-1, составляющей 480 мг, каждые четыре недели.

[0052] Один из аспектов изобретения, описанного в настоящем описании, относится к продукту, содержащему антитело против LAG-3, содержащее (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7; (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8; (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 9; (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 10; (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 11, и антитело против PD-1, содержащее (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19; (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 20; (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21; (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 22; (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 23; и (f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 24, для комбинированного применения для лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека, которому не проводили предшествующее лечение метастазирующей или нерезектабельной меланомы; где лечение включает введение по меньшей мере одной дозы антитела против LAG-3, составляющей 160 мг, и по меньшей мере одной дозы антитела против PD-1, составляющей 480 мг, каждые четыре недели.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0053] В одном аспекте настоящее изобретение относится к усовершенствованному способу лечения злокачественных опухолей у пациента-человека. В частности, настоящее изобретение демонстрирует, что введение антитела против LAG-3 в комбинации с антителом против PD-1 достигает неожиданно лучших исходов лечения в выборке пациентов, которым ранее не проводили предшествующую системную терапию. Таким образом, в одном аспекте изобретение, описанное в настоящем описании, относится к способу лечения ранее не подвергнутой лечению метастазирующей или нерезектабельной меланомы посредством введения комбинации ингибитора LAG-3 (например, антитело против LAG-3) и ингибитора каскада PD-1 (например, антитело против PD-1).

1. Определения

[0054] Чтобы настоящее изобретение стало более понятным, сначала определены определенные термины. Как используют в настоящей заявке, за исключением случаев, когда явно указано в настоящем описании, каждый из приведенных ниже терминов имеет значение, указанное ниже. Дополнительные определения приведены на протяжении настоящей заявки.

[0055] "Антитело" (Ab) включает, но не ограничивается этим, гликопротеин иммуноглобулин, который специфически связывается с антигеном и содержит по меньшей мере две тяжелых (H) цепи и две легких цепи (L), соединенных друг с другом дисульфидными связями. Каждая H-цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемая в настоящем описании как V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три константных домена: C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно обозначаемая в настоящем описании как V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один константный домен, C_L . Области V_H и V_L могут быть далее подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), между которыми находятся области, которые являются более консервативными, называемые каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L содержит три CDR и четыре FR, расположенные от N-конца к C-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Переменные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антитела могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Тяжелая цепь может иметь C-концевой лизин или не иметь его. Если в настоящем описании нет иных указаний, аминокислоты в переменных областях пронумерованы с использованием системы нумерации Kabat и аминокислоты в константных областях пронумерованы с использованием системы EU. В одном варианте осуществления антитело представляет собой полноразмерное антитело.

[0056] Иммуноглобулин может происходить из любого из широко известных изотипов, включая, но не ограничиваясь ими IgA, секреторный IgA, IgG и IgM. Подклассы IgG также известны специалистам в данной области, и они включают, но не ограничиваются ими, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека. "Изотип" относится к классу или подклассу антитела (например, IgM или IgG1), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. Термин "антитело" включает в качестве примера моноклональные и поликлональные антитела; химерные и гуманизированные антитела; антитела человека или не являющиеся человеческими антитела; полностью синтетические антитела и одноцепочечные антитела. Не являющееся человеческим антитело может быть гуманизировано рекомбинантными способами для уменьшения его иммуногенности у человека. Когда явно не указано и если контекст не указывает на иное, термин "антитело"

включает моноспецифические, биспецифические или мультиспецифические антитела, а также одноцепочечное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело. В других вариантах осуществления антитело представляет собой моноспецифическое антитело. В одном аспекте изотип константной области представляет собой IgG4 с мутацией в аминокислотном остатке 228, например, S228P.

[0057] Как используют в рамках изобретения, "IgG-антитело" имеет структуру встречающегося в природе IgG-антитела, т.е. оно имеет то же количество тяжелых и легких цепей и дисульфидных связей, что и у встречающегося в природе IgG-антитела того же подкласса. Например, IgG1-, IgG2-, IgG3- или IgG4-антитело против LAG-3 состоит из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), где две тяжелых цепи и легких цепи связаны одним и тем же количеством дисульфидных мостиков и в одном и том же их положении, что и в нативных IgG1-, IgG2-, IgG3- и IgG4-антителах, соответственно (если в антитело не внесена мутация для модификации дисульфидных связей).

[0058] "Выделенное антитело" относится к антителу, которое является по существу свободным от других антител, имеющих другую антигенную специфичность (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с LAG-3, является по существу свободным от антител, которые не связываются специфически с LAG-3). Однако выделенное антитело, которое специфически связывается с LAG-3, может обладать перекрестной реактивностью в отношении других антигенов, таких как молекулы LAG-3 из другого вида. Более того, выделенное антитело может быть по существу свободным от другого клеточного материала и/или химических веществ.

[0059] Антитело может представлять собой антитело, которое изменено (например, посредством мутации, делеции, замены, конъюгации с частью, не являющейся антителом). Например, антитело может включать одну или несколько аминокислот-вариантов (по сравнению с встречающимся в природе антителом), которые изменяют свойство (например, функциональное свойство) антитела. Например, в данной области известны многочисленные такие изменения, которые влияют, например, на время полужизни, эффекторную функцию и/или иммунный ответ на антитело у пациента. Термин "антитело" также включает искусственные полипептидные конструкции, которые содержат по меньшей мере один происходящий из антитела антигенсвязывающий центр.

[0060] Термин "моноклональное антитело" ("mAb") относится к не встречающемуся в природе препарату молекул антител с одним молекулярным составом, т.е. молекул антител, чьи первичные последовательности являются по существу идентичными и которые проявляют одну специфичность связывания и аффинность в отношении конкретного эпитопа. MAb является примером выделенного антитела. MAb можно получать способом гибридом, рекомбинантными, трансгенными или другими способами, известными специалистам в данной области.

[0061] Антитело "человека" (HuMAb) относится к антителу, имеющему

вариабельные области, в которых как каркасные области, так и области CDR происходят из последовательностей иммуноглобулинов зародышевого типа человека. Более того, если антитело содержит константную область, константная область также происходит из последовательностей иммуноглобулинов зародышевого типа человека. Антитела человека по изобретению могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевого типа человека (например, мутации, внесенные посредством случайного или сайт-направленного мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*). Однако не подразумевается, что термин "антитело человека", как используют в рамках изобретения, включает антитела, в которых последовательности CDR, происходящие из зародышевой линии другого вида млекопитающих, такого как мышь, трансплантированы в последовательности каркасной области человека. Термины антитела "человека" и "полностью человеческие" антитела используются в качестве синонимов.

[0062] "Гуманизированное антитело" относится к антителу, в котором некоторые, большинство или все из аминокислот вне доменов CDR не являющегося человеческим антитела заменены соответствующими аминокислотами, происходящими из иммуноглобулинов человека. В одном варианте осуществления гуманизированной формы антитела некоторые, большинство или все из аминокислот вне доменов CDR заменены аминокислотами из иммуноглобулинов человека, в то время как некоторые, большинство или все аминокислоты в одной или нескольких областях CDR являются неизменными. Являются допустимыми небольшие вставки, делеции, инсерции, замены или модификации аминокислот при условии, что они не устраняют способность антитела связывать конкретный антиген. "Гуманизированное" антитело сохраняет антигенную специфичность, сходную с антигенной специфичностью исходного антитела.

[0063] "Химерное антитело" относится к антителу, в котором вариабельные области происходят из одного вида и константные области происходят из другого вида, такому как антитело, в котором вариабельные области происходят из антитела мыши и константные области происходят из антитела человека.

[0064] Антитело "против антигена" относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном. Например, антитело против LAG-3 специфически связывается с LAG-3.

[0065] "Антигенсвязывающая часть" антитела (также называемая "антигенсвязывающим фрагментом") относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, с которым связывается целое антитело. Было показано, что антигенсвязывающую функцию антител могут выполнять фрагменты или части полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином "антигенсвязывающая часть" или "антигенсвязывающий фрагмент" антитела, например, антитела против LAG-3, описанного в настоящем описании, включают:

(1) Fab-фрагмент (фрагмент, получаемый посредством расщепления папаином) или

сходный одновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, LC и CH1;

(2) F(ab')₂-фрагмент (фрагмент, получаемый посредством расщепления пепсином) или сходный двухвалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области;

(3) Fd-фрагмент, состоящий из доменов VH и CH1;

(4) Fv-фрагмент, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела,

(5) однодоменный фрагмент антитела (dAb) (Ward *et al.*, (1989) *Nature* 341:544-46), который состоит из VH-домена;

(6) биоднодоменное антитело, которое состоит из двух VH-доменов, связанных посредством шарнирной области (перенацеливающие антитела с двойной аффинностью (DART));

(7) иммуноглобулин с двойным переменным доменом;

(8) выделенную определяющую комплементарность область (CDR); и

(9) комбинацию двух или более выделенных CDR, которые необязательно могут быть связаны посредством синтетического линкера. Более того, хотя два домена Fv-фрагмента, VL и VH, кодируются отдельными генами, они могут быть связаны, с использованием рекомбинантных способов, посредством синтетического линкера, который позволяет получение их в качестве единой белковой цепи, в которой области VL и VH образуют пару, формируя одновалентные молекулы (известные как одноцепочечный Fv (scFv); см., например, Bird *et al.* (1988) *Science* 242:423-426; и Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Подразумевается, что такие одноцепочечные антитела также охватываются термином "антигенсвязывающая часть" или "антигенсвязывающий фрагмент" антитела. Эти фрагменты антител получают с использованием общепринятых способов, известных специалистам в данной области, и фрагменты подвергают скринингу в отношении применимости аналогично тому, как и интактные антитела. Антигенсвязывающие части можно получать способами рекомбинантных ДНК или посредством ферментативного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент.

[0066] Термин "LAG-3" относится к гену активации лимфоцитов 3. Термин "LAG-3" включает варианты, изоформы, гомологи, ортологи и паралоги. Например, антитела, специфичные к белку LAG-3 человека, в определенных случаях могут перекрестно реагировать с белком LAG-3 из вида, отличного от человека. В других вариантах осуществления антитела, специфичные в отношении белка LAG-3 человека, могут быть полностью специфическими в отношении белка LAG-3 человека и могут не демонстрировать видовую или другие типы перекрестной реактивности, или могут перекрестно реагировать с LAG-3 из определенных других видов, но не из всех других видов (например, перекрестно реагируют с LAG-3 обезьяны, но не с LAG-3 мыши). Термин "LAG-3 человек" относится к LAG-3 с последовательностью человека, такой как полная аминокислотная последовательность LAG-3 человека, имеющая номер доступа

GenBank № NP_002277. Термин "LAG-3 мыши" относится к LAG-3 с последовательностью мыши, такой как полная аминокислотная последовательность LAG-3 мыши, имеющая номер доступа GenBank № NP_032505. LAG-3 также известен в данной области как, например, CD223. Последовательность LAG-3 человека может отличаться от LAG-3 человека с номером доступа GenBank № NP_002277 наличием, например, консервативных мутаций или мутаций в неконсервативных областях, и LAG-3 имеет по существу ту же биологическую функцию, что и LAG-3 человека с номером доступа GenBank № NP_002277. Например, биологическая функция LAG-3 человека состоит в наличии эпитопа во внеклеточном домене LAG-3, с которым связывается антитело по настоящему изобретению, или биологическая функция LAG-3 человека состоит в связывании с молекулами МНС класса II.

[0067] Конкретная последовательность LAG-3 человека, как правило по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности LAG-3 человека с номером доступа GenBank № NP_002277 и содержит аминокислотные остатки, которые идентифицируют аминокислотную последовательность как последовательность человека по сравнению с аминокислотными последовательностями LAG-3 другого вида (например, мыши). В определенных случаях LAG-3 человека может быть по меньшей мере приблизительно на 95% или даже по меньшей мере приблизительно на 96%, приблизительно на 97%, приблизительно на 98% или приблизительно на 99% идентичен аминокислотной последовательности LAG-3 с номером доступа GenBank № NP_002277. В определенных вариантах осуществления последовательность LAG-3 человека демонстрирует не более 10 аминокислотных отличий от последовательности LAG-3 с номером доступа GenBank № NP_002277. В определенных вариантах осуществления LAG-3 человека может демонстрировать не более 5, или даже не более 4, 3, 2 или 1 аминокислотного отличия от последовательности LAG-3 с номером доступа GenBank № NP_002277. Процентную идентичность можно определять, как описано в настоящем описании.

[0068] Как используют в рамках изобретения, термины "белок запрограммированной смерти 1", "белок запрограммированной клеточной смерти 1", "белок PD-1", "PD-1", "PD1", "PDCD1", "hPD-1" и "hPD-1" используют взаимозаменяемо, и они включают варианты, изоформы, видовые гомологи PD-1 человека, и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с PD-1. Полная последовательность PD-1 может быть найдена под номером доступа GenBank № U64863.

[0069] Белок запрограммированной смерти 1 (PD-1) является ингибиторным представителем семейства рецепторов CD28, которое также включает CD28, CTLA-4, ICOS и BTLA. PD-1 экспрессируется на активированных В-клетках, Т-клетках и миелоидных клетках (Agata et al., выше; Okazaki et al. (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) *J Immunol* 170:711-8). Первоначальные представители семейства, CD28 и ICOS, были открыты на основе функциональных эффектов усиления пролиферации Т-клеток после добавления моноклональных антител (Hutloff et al. *Nature*

(1999); 397:263-266; Hansen et al. *Immunogenics* (1980); 10:247-260). PD-1 был открыт посредством скрининга в отношении дифференциальной экспрессии в апоптотических клетках (Ishida et al. *EMBO J* (1992); 11:3887-95). Другие представители семейства, CTLA-4 и BTLA, были открыты посредством скрининга в отношении дифференциальной экспрессии в цитотоксических Т-лимфоцитах и TH1-клетках, соответственно. Все из CD28, ICOS и CTLA-4 имеют непарный остаток цистеина, позволяющий гомодимеризацию. Напротив, предполагается, что PD-1 существует в качестве мономера, лишенного не имеющего пары остатка цистеина, характерного для других представителей семейства CD28.

[0070] Ген PD-1 представляет собой трансмембранный белок типа I массой 55 кДа, который является частью суперсемейства генов Ig (Agata et al. (1996) *Int Immunol* 8:765-72). PD-1 содержит расположенный близко к мембране иммунорецепторный тирозинсодержащий ингибиторный мотив (ITIM) и расположенный дистально относительно мембраны мотив переключения на основе тирозина (ITSM) (Thomas, M. L. (1995) *J Exp Med* 181:1953-6; Vivier, E и Daeron, M (1997) *Immunol Today* 18:286-91). Хотя он и является структурно сходным с CTLA-4, PD-1 лишен мотива MYPPPY (SEQ ID NO: 32), который является ключевым для связывания B7-1 и B7-2. Было идентифицировано два лиганда для PD-1, PD-L1 и PD-L2, которые, как было показано, подавляют активацию Т-клеток при связывании с PD-1 (Freeman et al. (2000) *J Exp Med* 192:1027-34; Latchman et al. (2001) *Nat Immunol* 2:261-8; Carter et al. (2002) *Eur J Immunol* 32:634-43). Как PD-L1, так и PD-L2, являются гомологами B7, которые связываются с PD-1, но не связываются с другими представителями семейства CD28. PD-L1 распространен в различных злокачественных опухолях человека (Dong et al. (2002) *Nat. Med.* 8:787-9). Взаимодействие между PD-1 и PD-L1 приводит к снижению в опухоли количества инфильтрирующих лимфоцитов, снижению опосредуемой Т-клеточным рецептором пролиферации и иммунному ускользанию злокачественных клеток (Dong et al. (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). Иммунная супрессия может быть обращена вспять посредством ингибирования локального взаимодействия PD-1 с PD-L1, и этот эффект является аддитивным, когда также блокируется взаимодействие PD-1 с PD-L2 (Iwai et al. (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7; Brown et al. (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66).

[0071] В соответствии с тем, что PD-1 является ингибиторным представителем семейства CD28, у мышей с дефицитом PD-1 развиваются различные аутоиммунные фенотипы, включая аутоиммунную кардиомиопатию и волчаночноподобный синдром с артритом и нефритом (Nishimura et al. (1999) *Immunity* 11:141-51; Nishimura et al. (2001) *Science* 291:319-22). Кроме того, было обнаружено, что PD-1 играет роль в аутоиммунном энцефаломиелите, системной красной волчанке, реакции "трансплантат против хозяина" (GVHD), диабете типа I и ревматоидном артрите (Salama et al. (2003) *J Exp Med* 198:71-78; Prokunina and Alarcon-Riquelme (2004) *Hum Mol Genet* 13:R143; Nielsen et al. (2004) *Lupus* 13:510). В линии опухолевых В-клеток мыши было показано, что ITSM из PD-1 является

необходимым для блокирования опосредуемого BCR потока Ca^{2+} и фосфорилирования тирозина нижеследующих эффекторных молекул (Okazaki et al. (2001) PNAS 98:13866-71).

[0072] "Лиганд белка запрограммированной клеточной смерти 1 (PD-L1)" представляет собой один из двух гликопротеиновых лигандов клеточной поверхности для PD-1 (другой представляет собой PD-L2), который подавляет активацию Т-клеток и секрецию цитокинов при связывании с PD-1. Термин "PD-L1", как используют в рамках изобретения, 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. Полная последовательность hPD-L1 может быть найдена под номером доступа GenBank № Q9NZQ7.

[0073] Термины "лиганд белка запрограммированной смерти 2" и "PD-L2", как используют в рамках изобретения, включают PD-L2 человека (hPD-L2), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-L2, и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L2. Полная последовательность hPD-L2 может быть найдена под номером доступа GenBank № Q9BQ51.

[0074] "Пациент", как используют в рамках изобретения, включает любого пациента, который страдает от злокачественной опухоли (например, метастазирующая или нерезектабельная меланома). Термины "индивидуум" и "пациент" используют в настоящем описании взаимозаменяемо.

[0075] "Введение" относится к физическому введению композиции, содержащей терапевтическое средство, индивидууму, с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Пути введения для составов, описанных в настоящем описании, включают внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, посредством инъекции или инфузии. Выражение "парентеральное введение", как используют в рамках изобретения, означает способ введения, отличный от энтерального и местного введения, обычно посредством инъекции, и он включает, но не ограничивается ими, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрилимфатическую, осуществляемую внутрь очага повреждения, внутрикапсульную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, внутрипозвоночную, эпидуральную и внутригрудинную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления состав вводят непарентеральным путем, в некоторых вариантах осуществления перорально. Другие непарентеральные пути включают местный, эпидермальный или мукозальный путь введения, например, интраназальным путем, вагинально, ректально, сублингвально или местным путем. Введение также можно проводить, например, один раз, несколько раз и/или на протяжении одного или нескольких пролонгированных периодов.

[0076] "Лечение" или "терапия" индивидуума относятся к любому типу

вмешательства или процесса, проводимого у индивидуума, или введения активного вещества индивидууму, с целью обращения вспять, ослабления, облегчения, ингибирования, замедления прогрессирования, развития, тяжести или рецидива симптома, осложнения или состояния, или биохимических признаков, ассоциированных с заболеванием. Критерии оценки ответа солидных опухолей (RECIST) являются показателем эффективности лечения и представляют собой общепринятые правила, которые определяют, когда опухоли отвечают, стабилизируются или прогрессируют в ходе лечения. RECIST 1.1 является современным руководством по измерению солидных опухолей и определениям для объективной оценки изменения размера опухоли для применения в клинических испытаниях при злокачественных опухолях у взрослых и детей. Показатель общего состояния восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) представляет собой числовую шкалу, используемую для определения популяции пациентов для исследования в испытании, которая может быть единообразно воспроизведена среди врачей, которые включают пациентов в испытание. У педиатрических пациентов шкала общего состояния по Лански представляет собой способ описания функционального статуса у детей. Она была разработана и подтверждена непосредственно у детей со злокачественной опухолью для оценки ответа на терапию и общего состояния.

[0077] Как используют в рамках изобретения, "эффективное лечение" относится к лечению, обеспечивающему благоприятный эффект, например, смягчение по меньшей мере одного симптома заболевания или нарушения. Благоприятный эффект может иметь форму улучшения относительно исходного уровня, т.е. улучшения относительно показателя или наблюдения, сделанного до начала терапии в соответствии со способом. Благоприятный эффект также может иметь форму остановки, замедления, торможения или стабилизации неблагоприятного прогрессирования маркера солидной опухоли. Эффективное лечение может относиться к облегчению по меньшей мере одного симптома солидной опухоли. Такое эффективное лечение может, например, уменьшать боль у пациента, уменьшать размер и/или количество очагов повреждения, может снижать или предупреждать метастазирование опухоли, и/или может замедлять рост опухоли.

[0078] Термин "эффективное количество" относится к количеству средства, которое обеспечивает желаемый биологический, терапевтический и/или профилактический результат. Этот результат может представлять собой снижение, смягчение, облегчение, уменьшение, замедление и/или ослабление одного или нескольких признаков, симптомов или причин заболевания, или любое другое желаемое изменение биологической системы. В отношении солидных опухолей, эффективное количество включает количество, достаточное для обеспечения сокращения опухоли и/или для уменьшения скорости роста опухоли (например, для подавления роста опухоли) или для отсрочивания другой нежелательной клеточной пролиферации. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество представляет собой количество, достаточное для предупреждения или отсрочивания рецидива опухоли. Эффективное количество можно

вводить посредством одного или нескольких введений. Эффективное количество лекарственного средства или композиции может: (i) уменьшать количество злокачественных клеток; (ii) уменьшать размер опухоли; (iii) ингибировать, тормозить, замедлять до некоторой степени и останавливать инфильтрацию злокачественных клеток в периферические органы; (iv) ингибировать (т.е. замедлять до некоторой степени и останавливать) метастазирование опухоли; (v) ингибировать рост опухоли; (vi) предотвращать или отсрочивать возникновение и/или рецидив опухоли; и/или (vii) облегчать до некоторой степени один или несколько из симптомов, ассоциированных со злокачественной опухолью. В одном примере "эффективное количество" представляет собой количество антитела против LAG-3 и количество антитела против PD-1, в комбинации, для которых клинически показано, что они вызывают значительное уменьшение злокачественной опухоли или замедление прогрессирования злокачественной опухоли, такой как развернутая солидная опухоль. Как используют в рамках изобретения, термины "фиксированная доза", "базовая доза" и "базовая-фиксированная доза" используют взаимозаменяемо, и они относятся к дозе, которую вводят пациенту независимо от массы тела и площади поверхности тела (BSA) пациента. Таким образом, фиксированная или базовая доза не предоставляется в качестве дозы в мг/кг, а в качестве абсолютного количества средства (например, антитела против LAG-3 и антитела против PD-1). Например, индивидууму массой 60 кг и индивидууму массой 100 кг вводят одну и ту же дозу композиции (например, 480 мг антитела против PD-1 и 160 мг антитела против LAG-3 в одной емкости с составом в фиксированной дозе).

[0079] Использование термина "комбинация с фиксированной дозой" в отношении композиции по изобретению означает, что два или более различных антитела в одной композиции присутствуют в композиции в конкретных (фиксированных) соотношениях друг с другом. В некоторых вариантах осуществления фиксированная доза основана на массе (например, мг) антител. В определенных вариантах осуществления фиксированная доза основана на концентрации (например, мг/мл) антител. В некоторых вариантах осуществления соотношение 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 мг первого антител относительно второго антитела. Например, соотношение 3:1 первого антитела и второго антитела может означать, что емкость может содержать приблизительно 240 мг первого антитела и 80 мг второго антитела или приблизительно 3 мг/мл первого антитела и 1 мг/мл второго антитела.

[0080] Термин "доза в расчете на массу", как указано в настоящем описании, означает, что доза, которую вводят пациенту, вычислена на основе массы тела пациента. Например, когда пациенту с массой тела 60 кг требуется 3 мг/кг антитела против LAG-3 в комбинации с 3 мг/кг антитела против PD-1, можно установить соответствующие количества антител против LAG-3 (т.е. 180 мг) и антитела против PD-1 (т.е. 180 мг) за один раз из соотношения 1:1 для комбинации с фиксированной дозой антитела против LAG3 и антитела против PD-1.

[0081] Термин "выживание без прогрессирования", который может быть сокращенно указан как PFS, как используют в рамках изобретения, относится к периоду времени в ходе и после лечения солидной опухоли (т.е. меланомы), когда пациент живет с заболеванием, но не происходит его ухудшения.

[0082] "Интервал между дозированиями", как используют в рамках изобретения, означает количество времени, которое проходит между введениями доз состава, описанного в настоящем описании, который вводят индивидууму. Таким образом, интервал между дозированием может быть указан в качестве диапазонов.

[0083] Термин "частота дозирования", как используют в рамках изобретения, относится к частоте введения доз состава, описанного в настоящем описании, в данный период времени. Частота дозирования может быть указана в качестве количества доз на данный период времени, например, один раз в неделю или один раз в две недели и т.д.

[0084] Термины "приблизительно один раз в неделю", "один раз приблизительно каждую неделю", "один раз приблизительно каждые две недели" или любые сходные термины для интервалов дозирования, как используют в рамках изобретения, означают приблизительное количество, и "приблизительно один раз в неделю" или "один раз приблизительно каждую неделю" могут включать каждые семь суток \pm двое суток, т.е. от каждых пяти суток до каждых девяти суток. Таким образом, частота дозирования "один раз в неделю" может представлять собой каждые пять суток, каждые шесть суток, каждые семь суток, каждые восемь суток или каждые девять суток. "Один раз приблизительно каждые четыре недели" может включать 28 суток \pm 3 суток, т.е. от каждых 25 суток до каждых 31 суток. Сходные аппроксимации применимы, например, для одного раза приблизительно каждые три недели, одного раза приблизительно каждые четыре недели, одного раза приблизительно каждые пять недель, одного раза приблизительно каждые шесть недель и одного раза приблизительно каждые двенадцать недель. В некоторых вариантах осуществления интервал между введениями один раз приблизительно каждые шесть недель или один раз приблизительно каждые двенадцать недель означает, что первую дозу можно вводить в любой день на первой неделе, а затем следующую дозу можно вводить в любой день на шестой или двенадцатой неделе, соответственно. В

других вариантах осуществления интервал между введениями 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 недель (т.е. понедельник), соответственно.

[0085] "Злокачественная опухоль" относится к широкой группе различных заболеваний, характеризующейся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. Нерегулируемое деление клеток и рост приводят к образованию злокачественных опухолей, которые проникают в соседние ткани, а также могут метастазировать в отдаленные части организма через лимфатическую систему или кровотока. "Злокачественная опухоль" или "ткань злокачественной опухоли" может включать опухоль.

[0086] Термин "опухоль", как используют в рамках изобретения, относится к любой тканевой массе, которая является результатом чрезмерного роста или пролиферации клеток, либо доброкачественного (неракового), либо злокачественного (ракового), включая предзлокачественные очаги повреждения.

[0087] Термин "положительный по LAG-3" или "положительный по экспрессии LAG-3", касающийся экспрессии LAG-3, относится к доле клеток в тестируемом образце ткани, содержащем опухолевые клетки или инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, выше которой образец ткани определяют как экспрессирующий LAG-3. В некоторых вариантах осуществления для экспрессии LAG-3, анализируемой посредством иммуногистохимии (ИНС), положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 0,01%, по меньшей мере приблизительно 0,5%, 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 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90% или 100% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3. В других вариантах осуществления для экспрессии LAG-3, анализируемой посредством иммуногистохимии (ИНС) или проточной цитометрии, положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 0,01%, по меньшей мере приблизительно 0,5%, 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 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90% или 100% от общего количества ассоциированных с опухолью воспалительных клеток (например, Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3. Положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль также в рамках настоящего изобретения представляет собой опухоль, экспрессирующую LAG-3. В некоторых вариантах осуществления положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что от по меньшей мере приблизительно 0,1% до по меньшей мере приблизительно 20% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах осуществления положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что от по меньшей мере приблизительно 0,1% до по меньшей мере приблизительно 20% от общего количества ассоциированных с опухолью воспалительных клеток (например, Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3. В определенных вариантах осуществления положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что от по меньшей мере приблизительно 0,1% до по меньшей мере приблизительно 10% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3. В определенных вариантах осуществления положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что от по меньшей мере приблизительно 0,1% до по меньшей мере приблизительно 10% от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (например, Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3. В определенных вариантах осуществления положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что от по меньшей мере приблизительно 0,1% до по меньшей мере приблизительно 10% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3 в расчете на % площади опухоли. В некоторых вариантах осуществления положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 1% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 1% от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (например, Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что

по меньшей мере приблизительно 1% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3 в расчете на % площади опухоли. В других вариантах осуществления положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 5% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3 на клеточной поверхности. В других вариантах осуществления положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 5% от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (например, Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 5% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3 в расчете на % площади опухоли. В одном конкретном варианте осуществления положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 1%, или диапазон 1-5%, от общего количества клеток экспрессируют LAG-3 на клеточной поверхности. В одном конкретном варианте осуществления положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 1%, или диапазон 1-5%, от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (например, Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3 на клеточной поверхности.

[0088] "Отрицательный по LAG-3" или "отрицательный по экспрессии LAG-3" относится к доле клеток в тестируемом образце ткани, содержащем опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, которые не являются положительными по LAG-3 или положительными по экспрессии LAG-3.

[0089] Термин "положительный по PD-L1" или "положительный по экспрессии PD-L1", касающийся экспрессии PD-L1 на клеточной поверхности, относится к доле клеток в тестируемом образце ткани, содержащем опухолевые клетки или инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, выше которого образец определяют как экспрессирующий PD-L1 на клеточной поверхности. Для экспрессии на клеточной поверхности, анализируемой посредством иммуногистохимии (ИНС), например, с mAb 28-8, положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 0,01%, по меньшей мере приблизительно 0,05%, по меньшей мере приблизительно 0,1%, по меньшей мере приблизительно 0,5%, 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%, или по меньшей мере приблизительно 30% от общего количества

клеток экспрессируют PD-L1. Положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль также может быть выражена в настоящем описании как опухоль, экспрессирующая PD-L1. В других вариантах осуществления положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что от по меньшей мере приблизительно 0,1% до по меньшей мере приблизительно 20% от общего количества клеток экспрессируют PD-L1. В определенных вариантах осуществления положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что от по меньшей мере приблизительно 0,1% до по меньшей мере приблизительно 10% от общего количества клеток экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах осуществления положительная по PD-L1 или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 1% от общего количества клеток экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности. В других вариантах осуществления положительная по PD-L1 или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 5% от общего количества клеток экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности. В одном конкретном варианте осуществления положительная по PD-L1 или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере приблизительно 1%, или по меньшей мере приблизительно 1-5%, от общего количества клеток экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности.

[0090] "Иммунный ответ" относится к действию клеток иммунной системы (например, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, натуральные киллеры (NK), макрофаги, эозинофилы, тучные клетки, дендритные клетки и нейтрофилы) и растворимых макромолекул, продуцируемых любыми из этих клеток или печенью (включая антитела, цитокины и комплемент), которое приводит к селективному нацеливанию, связыванию, повреждению, разрушению и/или выведению из организма позвоночных вторгшихся патогенов, клеток или тканей, инфицированных патогенами, злокачественных или других аномальных клеток, или, в случаях аутоиммунитета или патологического воспаления, нормальных клеток или тканей человека.

[0091] "Инфильтрирующая опухоль воспалительная клетка" или "ассоциированная с опухолью воспалительная клетка" представляет собой любой тип клетки, который обычно участвует в воспалительном ответе у индивидуума и который инфильтрирует опухолевую ткань. Такие клетки включают инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL), макрофаги, моноциты, эозинофилы, гистиоциты и дендритные клетки.

[0092] Должно быть понятно, что использование альтернативы (например, "или") означает либо одну, либо обе, либо любую комбинацию альтернатив. Как используют в рамках изобретения, форму единственного числа следует понимать как "один или несколько" из любых указанных или перечисленных компонентов.

[0093] Термин "и/или", когда он используется в настоящем описании, следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим из них или без него. Таким образом, термин "и/или", как

используют в выражении, таком как "А и/или В" в настоящем описании, подразумевает включение "А и В," "А или В", "А" (только) и "В" (только). Аналогично, термин "и/или", как используют в настоящем описании в выражении, таком 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 (только); В (только) и С (только).

[0094] Понятно, что, когда аспекты описаны в настоящем описании с помощью формулировки "содержащий", также предусматриваются в остальном аналогичные аспекты, описанные в терминах "состоящий из" и/или "по существу состоящий из".

[0095] Термины "приблизительно" или "по существу составляющий" относятся к величине или композиции, которые находятся в пределах приемлемого диапазона погрешности для конкретной величины или композиции, как определяет специалист в данной области, который зависит частично от того, как величину или композицию измеряют или определяют, т.е. ограничений системы измерения. Например, "приблизительно" или "по существу составляющий" может означать в пределах 1 или более 1 стандартного отклонения в соответствии с практикой в данной области. Альтернативно "приблизительно" или "по существу состоящий из" может означать диапазон вплоть до 10% или 20% (т.е. $\pm 10\%$ или $\pm 20\%$). Например, приблизительно 3 мг может включать любое количество между 2,7 мг и 3,3 мг (для 10%) или между 2,4 мг и 3,6 мг (для 20%). Более того, в частности, в отношении биологических систем или процессов, термины могут быть округлены до порядка величины или вплоть до 5-кратного значения величины. Когда конкретные величины или композиции предоставлены в заявке и формуле изобретения, если нет иных указаний, значение "приблизительно" или "по существу составляющий" должны подразумеваться в рамках приемлемого диапазона погрешности для этой конкретной величины или композиции.

[0096] Как описано в настоящем описании, следует понимать, что любой диапазон концентраций, диапазон процентов, диапазон соотношений или диапазон целых чисел включает величину любого целого числа в указанном диапазоне и, в соответствующих случаях, их части (такие как одна десятая и одна сотая целого числа), если нет иных указаний.

[0097] Если не определено иначе, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, обладают тем же значением, которое обычно подразумевает специалист в области, к которой относится настоящее изобретение. Например, в Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 5th ed., 2013, Academic Press; и The Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 2006, Oxford University Press, предоставлен специалисту в данной области общий словарь многих из терминов, используемых в настоящем описании.

[0098] Единицы, приставки и символы обозначаются в соответствии с их признанной Международной системой единиц (SI) формой. Числовые диапазоны являются включающими числа, определяющие диапазон. Заголовки, приведенные в

настоящем описании, не являются ограничениями различных аспектов изобретения, которые могут установлены посредством описания в целом. Таким образом, термины, определенные непосредственно ниже, более подробно определены посредством описания во всей полноте.

[0099] Различные аспекты изобретения описаны более подробно в следующих подразделах.

2. Способы по изобретению

[0100] В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у индивидуума, нуждающегося в этом. Комбинированная терапия ингибитором LAG-3 (например, антитело против LAG-3) и ингибитором каскада PD-1 (например, антитело против PD-1) приводит к лучшим терапевтическим исходам (например, объективный показатель ответа и частота контроля заболевания) для страдающих пациентов.

[0101] В одном варианте осуществления изобретение относится к способу выбору пациента-человека с метастазирующей или нерезектабельной меланомой для иммунотерапии, включающему определение уровня экспрессии LAG-3 и/или PD-L1 в образце опухоли.

[0102] В одном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека, включающему: проведение у пациента иммунотерапии, включающей ингибитор LAG-3 (антитело против LAG-3) и ингибитор каскада PD-1 (антитело против PD-1).

[0103] В одном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающему: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора каскада PD-1.

[0104] В одном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающему: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; (b) определение присутствия опухолевых клеток, экспрессирующих BRAF с мутацией V600; и (c) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора каскада PD-1.

[0105] В определенных вариантах осуществления изобретение относится к способу продления периода выживания без прогрессирования более чем на 12 месяцев у пациента-человека, страдающего метастазирующей или нерезектабельной меланомой, включающему проведение у пациента иммунотерапии, описанной в настоящем описании, где пациент демонстрирует выживание без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев. В некоторых вариантах осуществления выживание пациента без прогрессирования может быть продлено после введения более чем приблизительно на 13 месяцев, приблизительно на 14 месяцев, приблизительно на 15 месяцев, приблизительно

на 16 месяцев, приблизительно на 17 месяцев, приблизительно на 18 месяцев, приблизительно на 2 года, приблизительно на 3 года, приблизительно на 4 года, приблизительно на 5 лет, приблизительно на 6 лет, приблизительно на 7 лет, приблизительно на 8 лет, приблизительно на 9 лет или приблизительно на 10 лет по сравнению с стандартной терапией.

[0106] В других вариантах осуществления изобретение относится к способу уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, страдающего метастазирующей или нерезектабельной меланомой, включающему проведение у пациента иммунотерапии, описанной в настоящем описании, где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере приблизительно на 10%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 40%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70%, приблизительно на 80%, приблизительно на 90% или на 100% по сравнению с размером опухоли до введения.

[0107] В некоторых вариантах осуществления способ включает идентификацию пациента как имеющего инфильтрирующие опухоль лимфоциты или опухолевые клетки, которые экспрессируют или содержат конкретный маркер. Например, в некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по LAG-3. В некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по PD-L1. В некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по LAG-3 и положительной по PD-L1. В некоторых вариантах осуществления меланома содержит BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по LAG-3 и экспрессирует BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по LAG-3 и содержит опухолевые клетки, которые экспрессируют BRAF дикого типа. В некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по LAG-3, положительной по PD-L1 и содержит BRAF дикого типа. В некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по LAG-3, положительной по PD-L1 и содержит BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по PD-L1 и содержит BRAF дикого типа. В некоторых вариантах осуществления меланома является положительной по PD-L1 и содержит BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3 и ингибитор каскада PD-1 представляет собой антитело против PD-1.

[0108] Изобретение также может включать способ предупреждения рецидива и/или индукции ремиссии у пациента, включающий проведение у пациента иммунотерапии, описанной в настоящем описании.

[0109] В определенных вариантах осуществления изобретение относится к способу повышения частоты объективного ответа до более чем 55% в выборке пациентов, где каждый пациент в выборке пациентов страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, при лечении злокачественной опухоли, включающем проведение у пациента иммунотерапии, описанной в настоящем описании, где каждый

пациент идентифицирован как имеющий метастазирующую или нерезектабельную меланому и где частота объективного ответа превышает приблизительно 55%, приблизительно 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70%, или приблизительно 75% или более. В некоторых вариантах осуществления способ включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3, положительную по PD-L1 опухоль проведением терапии. В некоторых вариантах осуществления опухоль экспрессирует BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора каскада PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3 и ингибитор каскада PD-1 представляет собой антитело против PD-1 антитело.

[0110] В определенных вариантах осуществления изобретение относится к способу повышения частоты контроля заболевания до более 55% в выборке пациентов, где каждый пациент в выборке пациентов страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, при лечении злокачественной опухоли, включающем проведение у пациента иммунотерапии, описанной в настоящем описании, где каждый пациент идентифицирован как имеющий метастазирующую или нерезектабельную меланому, и где частота контроля заболевания превышает приблизительно 55%, приблизительно 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70%, или приблизительно 75% или более. В некоторых вариантах осуществления способ включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 опухоль перед проведением терапии. В некоторых вариантах осуществления опухоль содержит BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора каскада PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3 и ингибитор каскада PD-1 представляет собой антитело против PD-1.

[0111] В других вариантах осуществления каждый пациент в способах имеет (i) продленную выживаемость без прогрессирования в течение более 12 месяцев, (ii) уменьшение размера опухоли по меньшей мере приблизительно на 10%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 40% или приблизительно на 50% или выше по сравнению с размером опухоли до введения, или (iii) оба из них.

[0112] Способы по изобретению в результате проведения иммунотерапии, описанной в настоящем описании, могут осуществлять лечение метастазирующей или нерезектабельной меланомы, уменьшать размер опухоли, ингибировать рост опухоли, устранять опухоль у пациента, предупреждать рецидив опухоли, индуцировать ремиссию у пациента или любую их комбинацию. В определенных вариантах осуществления проведение иммунотерапии, описанной в настоящем описании, индуцирует полный ответ. В других вариантах осуществления проведение иммунотерапии, описанной в настоящем описании, индуцирует частичный ответ. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора

LAG-3 и ингибитора каскада PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3 и ингибитор каскада PD-1 представляет собой антитело против PD-1.

[0113] В некоторых вариантах осуществления положительная по LAG-3 и/или PD-L1 опухоль содержит 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 7%, 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 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90% или 100% клеток, экспрессирующих LAG-3. В некоторых вариантах осуществления клетки, экспрессирующие LAG-3, представляют собой инфильтрирующие опухоль лимфоциты. В некоторых вариантах осуществления клетки, экспрессирующие PD-L1, представляют собой опухолевые клетки.

[0114] В некоторых вариантах осуществления экспрессию LAG-3 и/или PD-L1 определяют путем получения результатов анализа, способного определять экспрессию LAG-3 и/или PD-L1.

[0115] Способ определения экспрессии PD-L1 в образце опухоли, способы идентификации пациента как имеющего положительную по PD-L1 злокачественную опухоль и способы определения экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли описаны в PCT/US2016/029878, идеи которых включены в настоящее описание посредством ссылок.

[0116] Для оценки экспрессии LAG-3 и PD-L1 и/или наличия в злокачественной опухоли BRAF с мутацией V600, в одном варианте осуществления тестируемый образец ткани получают от пациента, который нуждается в терапии. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани включает, но не ограничивается ими, любой клинически значимый образец ткани, такой как биоптат опухоли, полученный толстоигольной биопсией образец ткани, полученный тонкоигольным способом аспират, или образец жидкости организма, такой как кровь, плазма, сыворотка, лимфа, асцитная жидкость, содержимое кисты или моча. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани получен из первичной опухоли. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани получен из метастаза. В некоторых вариантах осуществления тестируемые образцы ткани взяты от индивидуума в несколько моментов времени, например, до лечения, в ходе лечения и/или после лечения. В некоторых вариантах осуществления тестируемые образцы ткани получены из различных областей у индивидуума, как например, образец из первичной опухоли и образец из метастаза в отдаленной области.

[0117] В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани

представляет собой залитый парафином фиксированный образец ткани. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой фиксированный формалином залитый парафином (FFPE) образец ткани. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой свежий образец ткани (например, опухоли). В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой замороженный образец ткани. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой свежемороженый (FF) образец ткани (например, опухоли). В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой клетку, выделенную из жидкости. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани содержит циркулирующие опухолевые клетки (СТС). В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани содержит инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL). В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани содержит опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL). В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани содержит циркулирующие лимфоциты. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой архивный образец ткани. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой архивный образец ткани с известным диагнозом, анамнезом лечения и/или исхода. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой блок ткани. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой дисперсные клетки. В некоторых вариантах осуществления размер образца составляет от приблизительно 1 клетки до приблизительно 1×10^6 клеток или более. В некоторых вариантах осуществления размер образца составляет от приблизительно 1 клетки до приблизительно 1×10^5 клеток. В некоторых вариантах осуществления размер образца составляет от приблизительно 1 клетки до приблизительно 10000 клеток. В некоторых вариантах осуществления размер образца составляет от приблизительно 1 клетки до приблизительно 1000 клеток. В некоторых вариантах осуществления размер образца составляет от приблизительно 1 клетки до приблизительно 100 клеток. В некоторых вариантах осуществления размер образца составляет от приблизительно 1 клетки до приблизительно 10 клеток. В некоторых вариантах осуществления размер образца представляет собой одну клетку.

[0118] В другом варианте осуществления оценку статуса LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 можно проводить без получения тестируемого образца ткани. В некоторых вариантах осуществления выбор подходящего пациента включает (i) необязательно предоставление тестируемого образца ткани, полученного от пациента со злокачественной опухолью ткани, причем тестируемый образец ткани содержит опухолевые клетки и/или инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки; и (ii) оценку доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600, на основе оценки того, что доля клеток в тестируемом образце ткани превышает заданный пороговый уровень.

[0119] Однако следует понимать, что в любом из способов, включающих

определение статуса LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 в тестируемом образце ткани, стадия, включающая предоставление тестируемого образца ткани, полученного от пациента, представляет собой необязательную стадию. Иными словами, в определенных вариантах осуществления способ включает эту стадию, а в других вариантах осуществления эта стадия не включена в способ. Также должно быть понятно, что в определенных вариантах осуществления стадию "измерения" или "оценки" для идентификации или определения количества или доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3 и/или PD-L1, проводят посредством новаторского способа оценки LAG-3 и/или PD-L1, например, посредством проведения анализа с использованием полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР) или анализа ИНС. В некоторых других вариантах осуществления новаторская стадия не включена и экспрессию LAG-3 и/или PD-L1 оценивают, например, путем изучения результатов тестирования из лаборатории. В некоторых вариантах осуществления экспрессию LAG-3 и/или PD-L1 оценивают путем изучения результатов иммуногистохимического анализа из лаборатории. В определенных вариантах осуществления стадии способов вплоть до и включающие оценку LAG-3 и/или PD-L1 обеспечивают промежуточный результат, который может быть предоставлен врачу или другому лицу, осуществляющему уход, для использования для выбора подходящего кандидата для комбинированной терапии ингибитором LAG-3 и ингибитором каскада PD-1. В определенных вариантах осуществления стадии, которые обеспечивают промежуточный результат, проводит медицинский специалист или кто-либо под руководством медицинского специалиста. В других вариантах осуществления эти стадии проводит независимая лаборатория или независимое лицо, такое как лабораторный технический специалист. В некоторых вариантах осуществления наличие мутации BRAF V600 определяют с использованием подходов, параллельных подходам для LAG-3 и/или PD-L1.

[0120] В определенных вариантах осуществления любого из настоящих способов долю клеток, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1, и/или содержат BRAF с мутацией V600, оценивают посредством проведения анализа для детекции присутствия РНК LAG-3, PD-L1 и/или BRAF. В следующих вариантах осуществления детекцию присутствия РНК LAG-3, PD-L1 и/или BRAF проводят посредством ОТ-ПЦР, гибридизации *in situ* или защиты от РНК-аз. В некоторых вариантах осуществления детекцию присутствия РНК LAG-3, PD-L1 и/или BRAF проводят посредством анализа на основе ОТ-ПЦР. В некоторых вариантах осуществления оценивающий анализ на основе ОТ-ПЦР включает оценку уровня экспрессии РНК LAG-3, PD-L1 и/или BRAF РНК в тестируемом образце ткани относительно заданного уровня. В некоторых вариантах осуществления экспрессию одного или нескольких из LAG-3, PD-L1 и BRAF V600 оценивают с использованием определения профиля экспрессии генов.

[0121] В других вариантах осуществления долю клеток, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат мутацию BRAF V600, оценивают посредством проведения

анализа для определения присутствия LAG-3 и PD-L1 и/или наличия полипептида BRAF с мутацией V600. В следующих вариантах осуществления присутствие LAG-3, PD-L1 и/или полипептида BRAF V600 определяют посредством ИНС, твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), визуализации *in vivo* или проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления статус экспрессии LAG-3, PD-L1 и BRAF V600 определяют посредством ИНС. В других вариантах осуществления всех из этих способов экспрессию на клеточной поверхности LAG-3 и PD-L1 и/или наличие BRAF с мутацией V600 анализируют с использованием, например, ИНС или визуализации *in vivo*.

[0122] В других вариантах осуществления долю клеток, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат BRAF с мутацией V600 в тестируемом образце ткани, оценивают посредством проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани, анализируемый посредством проточной цитометрии, содержит инфильтрирующие опухоль иммунные клетки. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой гематологическую злокачественную опухоль, и образец ткани, анализируемый посредством проточной цитометрии, включает клетки периферической крови. В некоторых вариантах осуществления проточная цитометрия представляет собой мультиплексный анализ. В некоторых вариантах осуществления оценка посредством проточной цитометрии включает определение экспрессии маркеров, включающих LAG-3, CD4, CD8, FOXP3 и любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления оценка посредством проточной цитометрии включает оценку доли Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления оценка посредством проточной цитометрии включает оценку доли CD8⁺ Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления оценка посредством проточной цитометрии включает оценку доли CD4⁺ Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления оценка посредством проточной цитометрии включает оценку доли FOXP3⁺ Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат BRAF с мутацией V600.

[0123] В определенных вариантах осуществления любого из настоящих способов долю клеток, которые экспрессируют LAG-3, PD-L1 и/или содержат BRAF V600 в тестируемом образце ткани, оценивают путем проведения анализа для обнаружения присутствия полипептида LAG-3. В некоторых вариантах осуществления присутствие полипептида LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 определяют посредством иммуногистохимического анализа. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой биоптат опухоли. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой фиксированный формалином залитый парафином (FFPE) образец.

[0124] В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ. В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ. В некоторых вариантах осуществления мультиплексный иммуногистохимический анализ способен определять присутствие CD4, CD8, FOXP3 или любой их комбинации.

[0125] В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ включает приведение образца опухоли в контакт с моноклональным IgG1-антителом мыши против LAG-3 человека 17B4. В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ включает приведение образца опухоли в контакт с антителом против LAG-3, содержащим переменные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 3 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ включает приведение образца опухоли в контакт моноклональным IgG-антителом кролика против LAG-3 человека SP346. В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ включает приведение образца опухоли в контакт с моноклональным антителом против LAG-3 человека 11E3 (Novusbio), 874501 (Novusbio) или EPR4392(2) (Abcam). В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ включает приведение образца опухоли в контакт с реагентами в наборе Dako PD-L1 IHC 28-8 для анализа экспрессии PD-L1.

[0126] В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ оценивают при низком увеличении. В некоторых вариантах осуществления низкое увеличение составляет приблизительно 20X. В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ оценивают при высоком увеличении. В некоторых вариантах осуществления высокое увеличение составляет приблизительно 40X.

[0127] В некоторых вариантах осуществления оценку в иммуногистохимическом анализе проводят с помощью программного обеспечения для анализа изображений. В некоторых вариантах осуществления оценку в иммуногистохимическом анализе проводят посредством визуальной иммунной оценки патологом. В некоторых вариантах осуществления оценку в иммуногистохимическом анализе проводят вручную.

[0128] В некоторых вариантах осуществления оценка в иммуногистохимическом анализе включает оценку доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления оценка в иммуногистохимическом анализе включает оценку доли иммунных клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления оценка в иммуногистохимическом анализе включает оценку доли Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3 и PD-L1 и/или содержат BRAF с мутацией V600. В некоторых вариантах осуществления оценка в иммуногистохимическом анализе включает оценку доли CD8+ Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах осуществления оценка в

иммуногистохимическом анализе включает оценку доли CD4⁺ Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах осуществления оценка в иммуногистохимическом анализе включает оценку доли FOXP3⁺ Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3.

[0129] В некоторых вариантах осуществления иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ, который включает детекцию экспрессии МНС класса II опухолевыми клетками. В некоторых вариантах осуществления оценка в иммуногистохимическом анализе включает оценку доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют МНС класса II. В некоторых вариантах осуществления оценка в иммуногистохимическом анализе включает оценку доли неиммунных клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют МНС класса II.

[0130] В конкретных вариантах осуществления проводят измерение экспрессии фибриноген-подобного белка 1 (FGL1) опухолевыми клетками.

[0131] Способы визуализации обеспечили важные инструменты для исследования и лечения злокачественной опухоли. Последние разработки в системах молекулярной визуализации, включая позитронную эмиссионную томографию (PET), однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (SPECT), визуализацию отражения флуоресценции (FRI), опосредуемую флуоресценцию томографию (FMT), биолюминесцентную визуализацию (BLI), конфокальную микроскопию с лазерным сканированием (LSCM) и многофотонную микроскопию (MPM), вероятно, предвещают еще большее применение этих способов в исследовании злокачественной опухоли. Некоторые из этих систем молекулярной визуализации позволяют врачам не только видеть, где в организме находится опухоль, но также визуализировать экспрессию и активность определенных молекул, клеток и биологических процессов, которые влияют на поведение опухоли и/или способность отвечать на терапевтические лекарственные средства (Condeelis and Weissleder, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2(12):a003848 (2010)). Специфичность антитела, сопряженная с чувствительностью и разрешением PET, делает визуализацию посредством иммуно-PET особенно привлекательной для мониторинга и анализа экспрессии антигенов в образцах тканей (McCabe and Wu, *Cancer Biother. Radiopharm.* 25(3):253-61 (2010); Olafsen *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.* 23(4):243-9 (2010)). В определенных вариантах осуществления любого из настоящих способов анализ экспрессии LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 проводят посредством визуализации с использованием иммуно-PET. В определенных вариантах осуществления любого из настоящих способов долю клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600, оценивают путем проведения анализа для определения присутствия полипептида LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 на поверхности клеток в тестируемом образце ткани. В определенных вариантах осуществления тестируемый образец ткани представляет собой образец ткани FFPE. В других вариантах осуществления присутствие полипептида LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 определяют посредством анализа ИHC. В следующих вариантах осуществления анализ ИHC проводят с

использованием автоматического процесса.

3. Анализ экспрессии LAG-3 и PD-L1 и/или присутствия BRAF с мутации V600 посредством автоматической ИС

[0132] В одном варианте осуществления настоящих способов автоматический способ ИС используют для анализа экспрессии LAG-3 и PD-L1, и/или присутствия BRAF с мутацией V600 в образцах ткани FFPE. В настоящем описании описаны способы детекции присутствия LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 человека в тестируемом образце ткани или количественного определения уровня антигена LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 человека или доли клеток в образце, которые экспрессируют антиген, которые включают приведение тестируемого образца и отрицательного контрольного образца в контакт с mAb, которое специфически связывается с LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 человека, в условиях, которые позволяют образование комплекса между антителом или его частью и LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 человека. В определенных вариантах осуществления тестируемый и контрольный образцы ткани представляют собой образцы FFPE. Затем проводят детекцию образования комплекса, где различие в образовании комплекса между тестируемым образцом и отрицательным контрольным образцом указывает на присутствие антигена LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 человека в образце. Различные способы используют для количественного определения LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600.

[0133] В конкретном варианте осуществления автоматический способ ИС включает: (a) депарафинизацию и регидратацию залитых срезов тканей в автоматическом устройстве для окрашивания; (b) демаскировку антигена в автоматическом устройстве для окрашивания; (c) помещение реагентов в автоматическое устройство для окрашивания; и (d) запуск автоматического устройства для окрашивания с включением стадий нейтрализации эндогенной пероксидазы в образце ткани; блокирование неспецифических участков связывания белка на предметных стеклах; инкубацию предметных стекол с первичным Ab; инкубацию с постпервичным блокирующим средством; инкубацию с постпервичным средством для детекции антитела, таким как другое антитело, которое может быть или может не быть конъюгировано с осуществляющим детекцию ферментом; инкубацию с реагентом для детекции полимерного фермента; добавление субстрата хромогена и проявку; и контрастное окрашивание гематоксилином. В некоторых вариантах осуществления демаскировка антигена включает использование любого устройства для демаскировки антигена на основе нагревания.

[0134] В некоторых вариантах осуществления для оценки присутствия LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 в образцах опухолевой ткани, патолог исследует количество LAG-3+ инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, PD-L1+ опухолевых клеток и/или BRAF V600+ опухолевых клеток в каждом поле под микроскопом и мысленно оценивает процент клеток, которые являются положительными, затем усредняет его, получая конечный процент. Различную интенсивность окрашивания определяют как 0/негативное, 1+/слабое, 2+/умеренное и 3+/сильное. Как правило, величины процентов сначала определяют для групп 0 и 3+, а затем рассматривают промежуточную интенсивность 1+ и 2+. Для

высокогетерогенных тканей образец разделяют на зоны, и каждую зону оценивают отдельно, а затем объединяют в единый набор процентных величин. Проценты отрицательных и положительных клеток для различной интенсивности окрашивания определяют для каждой области, и каждой зоне присваивают срединную величину. Конечную процентную величину присваивают ткани для каждой категории интенсивности окрашивания: негативное, 1+, 2+ и 3+. Сумма всех интенсивностей окрашивания должна составлять 100%.

[0135] В некоторых вариантах осуществления окрашивание также оценивают в инфильтрирующих опухоль воспалительных клетках, таких как макрофаги и лимфоциты. Макрофаги и лимфоциты оценивают в отношении окрашивания LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 и все образцы регистрируют только как положительные или отрицательные по каждой категории клеток. Окрашивание также охарактеризовывают в соответствии с обозначением иммунных клеток опухоли наружный/внутренний. "Внутренний" означает, что иммунные клетки находятся в опухолевой ткани и/или на границах области опухоли без физического включения между опухолевыми клетками. "Наружный" означает, что отсутствует физическая ассоциация с опухолью, иммунные клетки находятся на периферии, ассоциированной с соединительной или любой соответствующей соседней тканью.

[0136] В определенных вариантах осуществления этих способов оценки образцы независимо оценивают два или более патологов, а затем оценки объединяют. В некоторых других вариантах осуществления идентификацию положительных и отрицательных клеток оценивают с использованием подходящего программного обеспечения.

[0137] Гисто-показатель (H-показатель) используют в качестве более количественного показателя данных ИНС. Гисто-показатель вычисляют следующим образом:

$$\text{Гисто-показатель} = [(\% \text{ опухоль} \times 1 \text{ (низкая интенсивность)}) + (\% \text{ опухоль} \times 2 \text{ (средняя интенсивность)}) + (\% \text{ опухоль} \times 3 \text{ (высокая интенсивность)})]$$

[0138] Для определения гисто-показателя патолог оценивает процент окрашенных клеток в каждой категории интенсивности в образце. Поскольку экспрессия большинства биомаркеров является гетерогенной, гисто-показатель является истинным отображением общей экспрессии. Конечный диапазон гисто-показателя составляет от 0 (минимальный показатель, отсутствует экспрессия) до 300 (максимальный показатель, сильная и массовая экспрессия).

4. Ингибиторы LAG-3

[0139] В одном аспекте изобретение относится к способам применения ингибитора LAG-3 для лечения злокачественных опухолей. Как используют в рамках изобретения, ингибитор LAG-3 включает, но не ограничивается ими, связывающиеся с LAG-3 соединения и растворимые полипептиды LAG-3. Связывающиеся с LAG-3 соединения включают антитела, которые специфически связываются с LAG-3.

[0140] В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет

собой связывающее LAG-3 соединение, например, антитело против LAG-3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой растворимый полипептид LAG-3, например, слитый полипептид LAG-3-Fc, способный связываться с МНС класса II.

[0141] Антитела против LAG-3 человека (или домены VH/VL, происходящие из них), пригодные для применения в рамках изобретения, можно получать с использованием способов, хорошо известных в данной области. Альтернативно можно использовать известные в данной области антитела против LAG-3.

[0142] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016, содержащее тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, показанные в SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, или их варианты, как описано в PCT/US13/48999, идеи которых включены в настоящее описание посредством ссылок. В некоторых вариантах осуществления антитело BMS-986016 не содержит концевую аминокислоту лизин тяжелой цепи SEQ ID NO: 1.

[0143] В других вариантах осуществления антитело имеет CDR тяжелой и легкой цепей или переменные области BMS-986016 (релатлимаб). Таким образом, в одном варианте осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH BMS-986016, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL BMS-986016, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5. В другом варианте осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 7, 8 и 9, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 10, 11 и 12, соответственно. В другом варианте осуществления антитело содержит области VH и/или VL, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 3 и/или SEQ ID NO: 5, соответственно. В другом варианте осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновых кислот, указанными в SEQ ID NO: 4 и/или SEQ ID NO: 6, соответственно. В другом варианте осуществления антитело конкурирует за связывание с и/или связывается с тем же эпитопом на LAG-3, что и упомянутые выше антитела. В другом варианте осуществления антитело связывается с эпитопом LAG-3 человека, содержащим аминокислотную последовательность PGHPLAPG (SEQ ID NO: 27). В другом варианте осуществления антитело связывается с эпитопом LAG-3 человека, содержащим аминокислотную последовательность HPAAPSSW (SEQ ID NO: 28) или PAAPSSWG (SEQ ID NO: 29). В одном варианте осуществления антитело содержит (a) CDR1 переменной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7; (b) CDR2 переменной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8; (c) CDR3 переменной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 9; (d) CDR1 переменной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 10; и (e) CDR2 переменной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ

ID NO: 11.

[0144] В другом варианте осуществления антитело обладает по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью аминокислотной последовательности вариабельной области и вышеупомянутыми антителами (например, по меньшей мере приблизительно 90%, 95% или 99% идентичность вариабельной области с SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 5).

[0145] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 перекрестно конкурирует с BMS-986016 (релатлимаб) за связывание с LAG-3 человека. В других вариантах осуществления антитело против LAG-3 связывается с тем же эпитопом, что и BMS-986016 (релатлимаб). В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело или моноклональное антитело человека. В других вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит константную область тяжелой цепи IgG1-изотипа человека или IgG4-изотипа человека. В конкретных вариантах осуществления антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016 (релатлимаб). В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 является биоаналогом. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 является биоаналогом BMS-986016 (релатлимаб).

[0146] В некоторых вариантах осуществления в терапевтических способах по изобретению можно использовать известные в данной области антитела против LAG-3. Например, можно использовать антитело против LAG-3 человека, описанное в US2011/0150892 A1 и упоминаемое как моноклональное антитело 25F7 (также известное как "25F7" и "LAG-3.1). Другие известные в данной области антитела против LAG-3, которые можно использовать, включают IMP731 (H5L7BW), описанное в US 2011/007023, МК-4280 (28G-10), описанное в WO2016028672, aLAG3(0414) и aLAG3(0416), описанное в WO2018185046, антитело против PDI/LAG3 0927, описанное в WO2018185043, REGN3767, описанное в Journal for Immunotherapy of Cancer, (2016) Vol. 4, Supp. Supplement 1 Abstract Number: P195, BAP050, описанное в WO2017/019894, IMP-701 (LAG-525), aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmAb22841, MGD013, BI754111, FS118, P13B02-30, AVA-017 и GSK2831781. Эти и другие антитела против LAG-3, пригодные в заявленном изобретении, могут быть найдены, например, в: WO2016/028672, WO2017/106129, WO2017/062888, WO2009/044273, WO2018/069500, WO2016/126858, WO2014/179664, WO2016/200782, WO2015/200119, WO2017/019846, WO2017/198741, WO2017/220555, WO2017/220569, WO2018/071500, WO2017/015560, WO2017/025498, WO2017/087589, WO2017/087901, WO2018/083087, WO2017/149143, WO2017/219995, US2017/0260271, WO2017/086367, WO2017/086419, WO2018/034227, WO2018185046, WO2018185043 и WO2014/140180. В одном варианте осуществления антагонист LAG-3 представляет собой IMP321 (эфтилагимод альфа). Содержание каждой из этих ссылок включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело против LAG-3 содержит мутацию серина на пролин в аминокислотном остатке 228.

[0147] Также можно использовать антитела, которые конкурируют с любым из вышеуказанных антител за связывание с LAG-3.

[0148] В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 используют для определения экспрессии LAG-3. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 выбирают по его способности связываться с LAG-3 в фиксированных формалином залитых парафином (FFPE) образцах ткани. В других вариантах осуществления антитело против LAG-3 способно связываться с LAG-3 в замороженных тканях. В следующих вариантах осуществления антитело против LAG-3 способно различать мембраносвязанные, цитоплазматические и/или растворимые формы LAG-3.

[0149] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3, пригодное для анализа, обнаружения и/или количественного определения LAG-3 в соответствии со способами, описанными в настоящем описании, представляет собой моноклональное IgG1-антитело мыши против LAG-3 человека 17B4. См., например, J. Matsuzaki, et al.; PNAS 107, 7875 (2010).

5. Ингибиторы каскада PD-1

[0150] В одном аспекте изобретение относится к способам применения ингибитора PD-1 для лечения злокачественных опухолей. Как используют в рамках изобретения "ингибитор каскада PD-1" включает, но не ограничивается ими, связывающиеся с PD-1 соединения, связывающиеся с PD-L1 соединения и связывающиеся с PD-L2 соединения. Связывающиеся с PD-1 соединения включают антитела, которые специфически связываются с PD-1. Связывающиеся с PD-L1 и PD-L2 соединения включают антитела, которые специфически связываются с PD-L1 и/или PD-L2, а также с растворимыми полипептидами PD-1, которые связываются с PD-L1 и/или PD-L2.

[0151] В некоторых вариантах осуществления ингибитор каскада PD-1 представляет собой связывающееся с PD-1 соединение, например, антитело против PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор каскада PD-1 представляет собой связывающееся с PD-L1 соединение, например, антитело против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор каскада PD-1 представляет собой связывающееся с PD-L2 соединение, например, антитело против PD-L2. В следующих вариантах осуществления связывающееся с PD-L1 соединение представляет собой растворимый полипептид PD-1, например, слитый полипептид PD-1-Fc, способный связываться с PD-L1. В следующих вариантах осуществления связывающееся PD-L2 соединение представляет собой растворимый полипептид PD-1, например, слитый полипептид PD-1-Fc, способный связываться с PD-L2.

[0152] Антитела против PD-1 человека (или домены VH и/или VL, происходящие из них), пригодные для применения в рамках настоящего изобретения, можно получать с использованием способов, хорошо известных в данной области. Альтернативно можно использовать известные в данной области антитела против PD-1. Например, можно использовать моноклональные антитела 5C4 (обозначаемое в настоящем описании как

ниволумаб или BMS-936558), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 и 5F4, описанные в WO 2006/121168. Другие известные антитела против PD-1 включают ламбролизумаб (МК-3475), описанный в WO 2008/156712, и AMP-514, описанное в WO 2012/145493. Другие известные антитела против PD-1 и другие ингибиторы PD-1 включают те, которые описаны, например, в WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335 и WO 2011/161699, которые включены в настоящее описание посредством ссылок. В одном варианте осуществления антитело против PD-1 представляет собой REGN2810. В другом варианте осуществления антитело против PD-1 представляет собой PDR001. Другое известное антитело против PD-1 представляет собой идилизумаб (CT-011).

[0153] В одном варианте осуществления антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб (также известный как "Opdivo®"; ранее обозначаемый как 5C4, BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538) представляет собой полностью человеческое IgG4-антитело (S228P) против иммунной точки контроля PD-1, которое селективно препятствует взаимодействию с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), тем самым блокируя подавление противоопухолевых функций Т-клеток (патент США № 8008449; Wang *et al.*, *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56 (2014)). В другом варианте осуществления антитело против PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с ниволумабом. В других вариантах осуществления антитело против PD-1 или его фрагмент связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет те же CDR, что и ниволумаб.

[0154] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 17 и 18, соответственно, или их варианты. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19; (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 20; (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21; (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 22; (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 23; и (f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 24.

[0155] В других вариантах осуществления антитело имеет CDR или вариательные области тяжелой и легкой цепей ниволумаба. Таким образом, в одном варианте осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 VH ниволумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 VL ниволумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21. В другом варианте осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 23, 24 и 25, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:

26, 27 и 28, соответственно. В другом варианте осуществления антитело содержит области VH и/или VL, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 21, соответственно. В другом варианте осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL), кодируемую последовательностями нуклеиновой кислоты, указанными в SEQ ID NO: 20 и/или SEQ ID NO: 22, соответственно. В другом варианте осуществления антитело конкурирует за связывание с и/или связывается с тем же эпитопом на PD-1, что и упомянутые выше антитела. В другом варианте осуществления антитело обладает по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью аминокислотной последовательности переменной области с вышеупомянутыми антителами (например, по меньшей мере приблизительно 90%, 95% или 99% идентичность переменной области с SEQ ID NO: 19 или SEQ ID NO: 21).

[0156] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с PD-1 человека. В других вариантах осуществления антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело или моноклональное антитело человека. В других вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит константную область тяжелой цепи IgG1-изотипа человека или IgG4-изотипа человека. В конкретных вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб или пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой биоаналог ниволумаба. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой биоаналог пембролизумаба.

[0157] Антитела против PD-1, известные в данной области, можно использовать в описанных в настоящем описании композициях и способах. Различные моноклональные антитела человека, которые специфически связываются с PD-1 с высокой аффинностью, описаны в патенте США № 8008449. Было продемонстрировано, что антитела против PD-1 человека, описанные в патенте США № 8008449, демонстрируют одну или несколько из следующих характеристик: (a) связываются с PD-1 человека с K_D 1×10^{-7} М или менее, как определяют посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием биосенсорной системы Biacore; (b) по существу не связываются с CD28, CTLA-4 или ICOS человека; (c) усиливают пролиферацию Т-клеток в анализе с использованием реакции смешанных лимфоцитов (MLR); (d) повышают продуцирование интерферона- γ в анализе MLR; (e) повышают секрецию IL-2 в анализе MLR; (f) связываются с PD-1 человека и PD-1 яванского макака; (g) ингибируют связывание PD-L1 и/или PD-L2 с PD-1; (h) стимулируют ответы в виде антигенспецифической памяти; (i) стимулируют антительные ответы; и (j) ингибируют рост опухолевых клеток *in vivo*. Антитела против PD-1, пригодные в рамках настоящего изобретения, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и демонстрируют по меньшей мере одну, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере пять, из предшествующих

характеристик.

[0158] Другие моноклональные антитела против PD-1 описаны, например, в патентах США № 6808710, 7488802, 8168757 и 8354509, публикации США № 2016/0272708 и публикациях РСТ № WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540 все из которых включены в настоящее описание посредством ссылок в полном объеме.

[0159] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбрано из группы, состоящей из ниволумаба (также известный как OPDIVO®, 5C4, BMS-936558, MDX-1106 и ONO-4538), пембролизумаба (Merck; также известный как KEYTRUDA®, ламбролизумаба и МК-3475; см. WO2008/156712), PDR001 (Novartis; также известное как спартализумаб; см. WO 2015/112900), MEDI-0680 (AstraZeneca; также известное как AMP-514; см. WO 2012/145493), цемиплимаба (Regeneron; также известный как REGN-2810; см. WO 2015/112800), JS001 (TAIZHOU JUNSHI PHARMA; см. Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), BGB-A317 ("Тислелизумаб"; Beigene; см. WO 2015/35606 и US 2015/0079109), INCSHR1210 (Jiangsu Hengrui Medicine; также известное как SHR-1210; см. WO 2015/085847; Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), TSR-042 (Tesaro Biopharmaceutical; также известное как ANB011; см. WO2014/179664), GLS-010 (Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals; также известное как WBP3055; см. Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), AM-0001 (Armo), STI-1110 (Sorrento Therapeutics; см. WO 2014/194302), AGEN2034 (Agenus; см. WO 2017/040790), MGA012 (Macrogenics, см. WO 2017/19846), IBI308 (Innovent; см. WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540) и BCD-100 (Biocad).

[0160] В одном варианте осуществления антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой полностью человеческое IgG4-антитело (S228P) против иммунной точки контроля PD-1, которое селективно препятствует взаимодействию 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).

[0161] В другом варианте осуществления антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное IgG4-антитело (S228P), направленное против рецептора PD-1 клеточной поверхности человека (белок запрограммированной смерти 1 или белок запрограммированной клеточной смерти 1). Пембролизумаб описан, например, в патентах США № 8354509 и 8900587.

[0162] Антитела против PD-1, пригодные в описанных композициях и способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-1

человека и перекрестно конкурируют за связывание PD-1 человека с любым из антител против PD-1, описанных в настоящем описании, например, ниволумабом (см., например, патент США № 8008449 и 8779105; WO 2013/173223). В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и любое из антител против PD-1, описанных в настоящем описании, например, ниволумаб. Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном указывает на то, что эти моноклональные антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и пространственно препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с этой конкретной эпитопной областью. Ожидается, что эти перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, в высокой степени сходные с функциональными свойствами эталонного антитела, например, ниволумаба, вследствие их связывание с той же эпитопной областью PD-1. Перекрестно конкурирующие антитела можно без труда идентифицировать на основе их способности перекрестно конкурировать с ниволумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Biacore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

[0163] В определенных вариантах осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание PD-1 человека или связывают ту же эпитопную область, что и антитело PD-1 человека ниволумаб, представляют собой моноклональные антитела. Для введения людям эти перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные, сконструированные антитела или гуманизированные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела можно получать и выделять способами, хорошо известными в данной области.

[0164] Антитела против PD-1, пригодные в композициях и способах по изобретению, также включают антигенсвязывающие части указанных выше антител. Было в полной мере продемонстрировано, что антигенсвязывающую функцию антитела могут выполнять фрагменты полноразмерного антитела.

[0165] Антитела против PD-1, пригодные для применения в описанных композициях и способах, представляют собой антитела, которые связываются с PD-1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-L1 и/или PD-L2, и ингибируют иммуносупрессивный эффект каскада передачи сигнала PD-1. В любой из композиций или способов, описанных в настоящем описании, "антитело" против PD-1 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, которые связываются с рецептором PD-1 и демонстрируют функциональные свойства, сходные со свойствами целых антител, в отношении ингибирования связывания лиганда и активации иммунной системы. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание PD-1 человека.

[0166] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет

собой биспецифическое антитело. В конкретных вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой биспецифическое антитело, которое связывает как PD-1, так и LAG-3.

6. Антитела против PD-L1

[0167] В определенных вариантах осуществления настоящая заявка охватывает применение антитела против PD-L1 в качестве ингибитора каскада PD-1. В одном варианте осуществления антитело против PD-L1 ингибирует связывание рецептора PD-L1, т.е. PD-1, с его лигандом PD-L1.

[0168] Поскольку антитело против PD-1 и антитело против PD-L1 нацелены на один и тот же сигнальный путь, и в клинических испытаниях было показано, что они демонстрируют сходные уровни эффективности при различных злокачественных опухолях, включая почечноклеточный рак (см. Brahmer *et al.* (2012) *N Engl J Med* 366:2455-65; Topalian *et al.* (2012a) *N Engl J Med* 366:2443-54; WO 2013/173223), антителом против PD-L1 можно заменить антитело против PD-1 в любом из терапевтических способов, описанных в настоящем описании. Таким образом, определенные аспекты настоящего изобретения относятся к способам лечения индивидуума, страдающего от опухоли, например SCLC, имеющего высокий статус ТМВ, включающим введение индивидууму только антитела против PD-L1 ("монотерапия") или антитела против PD-L1 в комбинации с антителом против CTLA-4. Антитела против PD-L1, которые известны в данной области, моно использовать в композициях и способах по настоящему изобретению. Примеры антител против PD-L1, пригодных в композициях и способах по настоящему изобретению, включают антитела, описанные в патенте США № 9580507. Было продемонстрировано, что моноклональные антитела человека против PD-L1, описанные в патенте США №9580507, имеют одну или несколько из следующих характеристик: (a) связываются с PD-L1 человека с K_D 1×10^{-7} М или менее, при определении посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием биосенсорной системы Biacore; (b) усиливают пролиферацию Т-клеток в анализе с использованием реакции смешанных лимфоцитов (MLR); (c) повышают продуцирование интерферона- γ в анализе MLR; (d) повышают секрецию IL-2 в анализе MLR; (e) стимулируют антительные ответы; и (f) обращают вспять эффект регуляторных Т-клеток на эффекторные Т-клетки и/или дендритные клетки. Антитела против PD-L1, пригодные в рамках настоящего изобретения, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-L1 человека и имеют по меньшей мере одну, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере пять, из предшествующих характеристик.

[0169] В определенных вариантах осуществления антитело против PD-L1 выбрано из группы, состоящей из BMS-936559 (также известное как 12A4, MDX-1105; см., например, патент США № 7943743 и WO 2013/173223), атезолизумаба (Roche; также известный как TECENTRIQ®; MPDL3280A, RG7446; см. US 8217149; также см., Herbst *et al.* (2013) *J Clin Oncol* 31(suppl):3000), дурвалумаба (AstraZeneca; также известный как

IMFINZIT[™], MEDI-4736; см. WO 2011/066389), авелумаба (Pfizer; также известный как BAVENCIO®, MSB-0010718C; см. WO 2013/079174), STI-1014 (Sorrento; см. WO2013/181634), CX-072 (Cytomx; см. WO2016/149201), KN035 (3D Med/Alphamab; см. Zhang et al., *Cell Discov.* 7:3 (March 2017), LY3300054 (Eli Lilly Co.; см., например, WO 2017/034916), и CK-301 (Checkpoint Therapeutics; см. Gorelik et al., AACR:Abstract 4606 (Apr 2016)).

[0170] В определенных вариантах осуществления антитело против PD-L1 представляет собой атезолизумаб (TECENTRIQ®). Атезолизумаб представляет собой полностью гуманизованное моноклональное IgG1-антитело против PD-L1.

[0171] В определенных вариантах осуществления антитело против PD-L1 представляет собой дурвалумаб (IMFINZIT[™]). Дурвалумаб представляет собой моноклональное антитело IgG1-каппа человека против PD-L1.

[0172] В определенных вариантах осуществления антитело против PD-L1 представляет собой авелумаб (BAVENCIO®). Авелумаб представляет собой моноклональное IgG1-лямбда человека против PD-L1.

[0173] Антитела против PD-L1, пригодные в описанных композициях и способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-L1 человека и перекрестно конкурируют за связывание PD-L1 человека с антителом против PD-L1, описанным в настоящем описании, например, атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 связывает тот же эпитоп, что и любое из антител против PD-L1, описанных в настоящем описании, например, атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб. Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном указывает на то, что эти антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и пространственно препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител к этой конкретной эпитопной области. Ожидается, что эти перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, в высокой степени сходные с функциональными свойствами эталонного антитела, например, атезолизумаба и/или авелумаба, вследствие их связывания с одной и той же эпитопной областью PD-L1. Перекрестно конкурирующие антитела можно без труда идентифицировать на основе их способности перекрестно конкурировать с атезолизумабом и/или авелумабом в стандартных анализах связывания PD-L1, таких как анализ Viacore, способы анализа ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

[0174] В определенных вариантах осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание PD-L1 человека или связываются с той же эпитопной областью антитела против PD-L1 человека, что и атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб, представляют собой моноклональные антитела. Для введения человеку эти перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела, или гуманизованные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизованные или человеческие моноклональные

антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области.

[0175] Антитела против PD-L1, пригодные в композициях и способах по заявленному изобретению, также включают антигенсвязывающие части указанных выше антител. Было в полной мере продемонстрировано, что антигенсвязывающую функцию антитела могут выполнять фрагменты полноразмерного антитела.

[0176] Антитела против PD-L1, пригодные для применения в описанных композициях и способах, представляют собой антитела, которые связывают PD-L1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-1 и ингибируют иммуносупрессивный эффект PD-1 каскада передачи сигнала. В любых из композиций и способов, описанных в настоящем описании, "антитело" против PD-L1 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, которые связываются с PD-L1 и демонстрируют функциональные свойства, сходные со свойствами целых антител, в отношении ингибирования связывания рецептора и активации иммунной системы. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-L1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют с атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом за связывание с PD-L1 человека.

[0177] Антитело против PD-L1, пригодное в рамках настоящего изобретения, может представлять собой любое антитело против PD-L1, которое специфически связывается с PD-L1, например, антитела, которые перекрестно конкурируют с дурвалумабом, авелумабом или атезолизумабом за связывание с PD-1 человека, например, антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и дурвалумаб, авелумаб или атезолизумаб. В конкретном варианте осуществления антитело против PD-L1 представляет собой дурвалумаб. В других вариантах осуществления антитело против PD-L1 представляет собой авелумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 представляет собой атезолизумаб.

7. Антитела против CTLA-4

[0178] В определенных вариантах осуществления настоящая заявка охватывает применение антитела против CTLA-4. В одном варианте осуществления антитело против CTLA-4 связывает и ингибирует CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления антитело против CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (YERVOY), тремелимумаб (тицилимумаб; CP-675,206), AGEN-1884 или АТОР-1015.

8. Фармацевтические композиции

[0179] Фармацевтические композиции, пригодные для введения пациенту-людям, как правило, составляют для парентерального введения, например, в жидком носителе или в форме, пригодной для восстановления в жидкий раствор или суспензию для внутривенного введения.

[0180] Как правило, такие композиции, главным образом, содержат фармацевтически приемлемый носитель. Как используют в рамках изобретения, термин "фармацевтически приемлемый" означает одобренный правительственным органом

регулирования или приведенный в Фармакопее США или другой общеизвестной фармакопее для применения у животных, в частности, у человека. Термин "носитель" относится к разбавителю, адьюванту, эксципиенту или наполнителю, с которым вводят соединение. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая жидкости нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло, глицерин полиэтиленгликоль рицинолеат и т.п. В качестве носителей можно использовать воду или водный солевой раствор и водные растворы декстрозы и глицерина, в частности, для инъекционных растворов (например, содержащих антитело против LAG-3 и антитело против PD-1). Жидкие композиции для парентерального введения можно составлять для введения посредством инъекции или непрерывной инфузии. Пути введения посредством инъекции или инфузии включают внутривенный, внутрибрюшинный, внутримышечный, интратекальный и подкожный. В одном варианте осуществления антитела против LAG-3 и против PD-1 вводят внутривенно (например, в отдельных составах или вместе (в одном составе или в отдельных составах)).

9. Выборки пациентов

[0181] В рамках настоящего изобретения предусматриваются клинические способы лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы у пациента-человека с использованием иммунотерапии, описанной в настоящем описании, например, комбинации ингибитора LAG-3 (например, антитело против LAG-3) и ингибитора каскада PD-1 (например, антитело против PD-1). В определенных вариантах осуществления пациенту, которому проводят иммунотерапию, описанную в настоящем описании, не проводили лечение в отношении метастазирования. В одном варианте осуществления пациенту-человеку ранее не проводили предшествующую терапию метастазирующей или нерезектабельной меланомы. В определенных вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующую системную терапию. В некоторых вариантах осуществления проведенные способы терапии по настоящему изобретению представляют собой терапии первой линии при метастазировании. В некоторых вариантах осуществления меланома представляет собой ранее не подвергаемую лечению метастазирующую или нерезектабельную меланому.

[0182] В определенных вариантах осуществления пациенту проводили предшествующее лечение, когда меланома была локально развернутой. В одном варианте пациенту-человеку проводили предшествующую адьювантную терапию меланомы. В одном варианте осуществления предшествующая адьювантная терапия меланомы представляет собой терапию против PD-1. В различных вариантах осуществления предшествующая адьювантная терапия меланомы представляла собой терапию против CTL-4. В определенных вариантах осуществления пациенту-человеку проводили предшествующую неоадьювантную терапию меланомы. В некоторых вариантах осуществления пациенту проводили терапию в ходе периода времени более чем за 6

месяцев до возникновения рецидива. В следующем варианте осуществления пациенту проводили адъювантную терапию интерфероном. В другом варианте осуществления пациенту проводили неадъювантную терапию интерфероном. В одном варианте осуществления пациенту проводили терапию, включающую ингибитор BRAF. В определенных вариантах осуществления пациенту проводили терапию, включающую ингибитор MEK. В одном варианте осуществления пациенту проводили предшествующую адъювантную терапию меланомы в ходе периода времени более чем или ровно за 6 месяцев между последней дозой и возникновением рецидива. В одном варианте осуществления пациент страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, которая является рефрактерной к лечению посредством терапии злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления терапия злокачественной опухоли может представлять собой лучевую терапию, хирургическую операцию, химиотерапию, генную терапию, ДНК-терапию, вирусную терапию, РНК-терапию, иммунотерапию, трансплантацию костного мозга, нанотерапию, терапию моноклональным антителом или комбинацию вышеуказанных. Терапия может иметь форму адъювантной или неадъювантной терапии. "Адъювантная терапия", как используют в рамках изобретения, относится к лечению злокачественной опухоли, проводимому после первичного лечения, для уменьшения риска возвращения злокачественной опухоли. Адъювантная терапия может включать химиотерапию, лучевую терапию, гормональную терапию, таргетную терапию или биологическую терапию. Адъювантную терапию часто используют после первичного лечения, такого как хирургическая операция или лучевая терапия. Адъювантная терапия, проводимая до основного лечения, называется неадъювантной терапией. Этот тип адъювантной терапии также может снижать вероятность возвращения злокачественной опухоли, и его часто используют для проведения более эффективного первичного лечения, например, хирургической операции или лучевой терапии, для уменьшения опухолевой нагрузки. В другом варианте осуществления пациент страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, которая рефрактерна к лечению химиотерапией.

[0183] В другом варианте осуществления пациент страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, которая является рефрактерной к лечению ингибитором иммунной точки контроля. В другом варианте осуществления пациент страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, которая является рефрактерной к лечению ингибитором PD-1. В другом варианте осуществления пациент страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, которая является рефрактерной к лечению антителом против PD-1. В одном варианте осуществления пациент страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, для которой спрогнозировано, что она является рефрактерной к лечению антителом против PD-1. В одном варианте осуществления метастазирующая или нерезектабельная меланома считается рефрактерной к терапии антителом против PD-1, исходя из анализа биомаркеров. В определенных вариантах осуществления метастазирующая или нерезектабельная меланома является

рефрактерной к монотерапии PD-1. В другом варианте осуществления пациент страдает от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, которая является рефрактерной к лечению антителом против PD-L1.

[0184] Пациентов могут быть протестированы или отобраны по одному или нескольким из описанных выше клинических признаков до, в ходе или после лечения.

[0185] В некоторых вариантах осуществления пациент является подростком в возрасте 12-17 лет.

10. Способы иммунотерапии

[0186] В одном аспекте способы иммунотерапии, описанные в настоящем описании, вовлекают введение ингибитора LAG-3 (например, антитело против LAG-3) и ингибитора каскада PD-1 (например, антитело против PD-1 или антитело против PD-L1) для лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы.

[0187] В одном варианте осуществления изобретение относится к антителу против LAG-3 и антителу против PD-1 согласно определенному клиническому режиму дозирования для лечения индивидуумов, имеющих метастазирующую или нерезектабельную меланому. В конкретном варианте осуществления антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016. В другом варианте осуществления антитело против PD-1 представляет собой BMS-936558. В другом варианте осуществления режимы дозирования являются фиксированными. В другом варианте осуществления режимы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (например, эффективного ответа). В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 160 мг антитела LAG-3 и в дозе 480 мг антитела PD-1. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 80 мг антитела против LAG-3 и в дозе 240 мг антитела против PD-1. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 160 мг антитела против LAG-3 и в дозе 240 мг антитела против PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 240 мг антитела против LAG-3 и в дозе 240 мг антитела против PD-1. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 480 мг антитела против LAG-3 и в дозе 480 мг антитела против PD-1. В определенных вариантах осуществления соотношение антитела против LAG-3 и антитела против PD-1 составляет 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 2:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 5:1 или 6:1.

[0188] Как используют в рамках изобретения, смежное или комбинированное введение (совместное введение) включает одновременное введение соединений в одной и той же или в различных дозированных формах, или отдельное введение соединений (например, последовательное введение). Таким образом, например, антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 можно вводить одновременно в водном составе. Альтернативно антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 могут быть составлены для введения по отдельности и введены одновременно или последовательно (например, одно антитело вводят в пределах приблизительно 30 минут до введения второго антитела).

[0189] Например, сначала можно вводить антитело против PD-1, а затем (например, сразу после этого) можно проводить введение антитела против LAG-3, или наоборот. В одном варианте осуществления антитело против PD-1 вводят до введения антитела против LAG-3. В другом варианте осуществления антитело против PD-1 вводят после введения антитела против LAG-3. В другом варианте осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят одновременно. Такое одновременное или последовательное введение предпочтительно приводит к тому, что оба антитела одновременно присутствуют у подвергаемых лечению пациентов.

11. Протоколы лечения

[0190] В одном аспекте подходящие протоколы лечения для терапии злокачественной опухоли у пациента-человека включают введение пациенту эффективного количества ингибитора LAG3 (например, антитело против LAG-3) и ингибитора каскада PD-1 (например, антитело против PD-1).

[0191] В некоторых вариантах осуществления подходящий протокол лечения для терапии злокачественной опухоли у пациента-человека включает, например, введение пациенту эффективного количества каждого из:

[0192] (a) антитела против LAG-3, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и

[0193] (b) антитела против PD-1, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21;

[0194] где способ включает по меньшей мере один курс введения, где курс представляет собой период, составляющий 4 недели, где для каждого из по меньшей мере одного курса по меньшей мере одна доза антитела против LAG-3 составляет приблизительно 1, приблизительно 3, приблизительно 10, приблизительно 20, приблизительно 50, приблизительно 80, приблизительно 100, приблизительно 120, приблизительно 130, приблизительно 150, приблизительно 160, приблизительно 180, приблизительно 200, приблизительно 240, приблизительно 280, приблизительно 300, приблизительно 320, приблизительно 360, приблизительно 400, приблизительно 440, приблизительно 480, или приблизительно 500 мг и по меньшей мере одна доза антитела против PD-1 составляет приблизительно 50, приблизительно 80, приблизительно 100, приблизительно 130, приблизительно 150, приблизительно 180, приблизительно 200, приблизительно 240, приблизительно 280, приблизительно 320, приблизительно 360, приблизительно 400, приблизительно 440, приблизительно 480, приблизительно 500, приблизительно 520, приблизительно 560, приблизительно 600, приблизительно 650, приблизительно 700 или приблизительно 800 мг. В другом варианте осуществления одна доза антитела против LAG-3 составляет 0,01, 0,03, 0,25, 0,1, 0,3, 1 или 2, 3, 5, 8 или 10

мг/кг массы тела, и одна доза антитела против PD-1 составляет 0,1, 0,3, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг массы тела.

[0195] В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 160 мг антитела против LAG-3 и 480 мг антитела против PD-1.

[0196] В одном варианте осуществления опухоль представляет собой метастазирующую или нерезектабельную меланому. В следующем варианте осуществления опухоль представляет собой ранее не подвергаемую лечению метастазирующую или нерезектабельную меланому.

[0197] В одном варианте осуществления способ относится к способу ингибирования роста метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (a) 160 мг антитела против LAG-3; и (b) 480 мг антитела против PD-1, где пациенту не проводили предшествующее лечение метастазирующей меланомы (т.е. где лечение представляет собой лечение первой линии). В некоторых вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующее системное лечение. В определенных вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующую хирургическую операцию по поводу меланомы. В другом варианте осуществления пациенту не проводили лучевую терапию. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и антитело против PD-1 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21. В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 представляет собой релатлимаб и антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В одном варианте осуществления курс введения составляет четыре недели (Q4W), который при необходимости может быть повторен.

[0198] В одном варианте осуществления способ относится к способу ингибирования роста нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (a) 160 мг антитела против LAG-3; и (b) 480 мг антитела против PD-1, где пациенту не проводили предшествующее лечение нерезектабельной меланомы (т.е. где лечение представляет собой лечение первой линии). В некоторых вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующее системное лечение. В определенных вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующее хирургическое лечение меланомы. В другом варианте осуществления пациенту не проводили лучевую терапию. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в

SEQ ID NO: 5, и антитело против PD-1 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21. В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 представляет собой релатлимаб и антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В одном варианте осуществления курс введения составляет четыре недели (Q4W), который при необходимости может быть повторен.

[0199] В одном варианте осуществления способ относится к способу лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (a) антагониста LAG-3; и (b) ингибитора каскада PD-1; где пациенту не проводили предшествующее лечение метастазирующей меланомы (т.е. где лечение представляет собой лечение первой линии). В некоторых вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующее системное лечение. В определенных вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующее хирургическое лечение меланомы. В другом варианте осуществления пациенту не проводили лучевую терапию. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и антитело против PD-1 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21. В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 представляет собой релатлимаб и антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В одном варианте осуществления курс введения составляет четыре недели (Q4W), который при необходимости может быть повторен.

[0200] В одном варианте осуществления способ относится к способу лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, причем способ включает введение пациенту эффективного количества: (a) антагониста LAG-3; и (b) ингибитора каскада PD-1; где пациенту не проводили предшествующее лечение нерезектабельной меланомы (т.е. где лечение представляет собой лечение первой линии). В некоторых вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующее системное лечение. В определенных вариантах осуществления пациенту не проводили предшествующее хирургическое лечение меланомы. В другом варианте осуществления пациенту не проводили лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, и антитело против PD-1 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19, и

домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21. В определенных вариантах осуществления антитело против LAG-3 представляет собой релатлимаб и антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В одном варианте осуществления курс введения составляет четыре недели (Q4W), который при необходимости может быть повторен.

[0201] В другом варианте осуществления вводимое количество антитела против LAG-3 и/или антитела против PD-1 является постоянным для каждой дозы. В другом варианте осуществления вводимое количество антитела варьируется от дозы к дозе. Например, поддерживающая (или последующая) доза антитела может быть более высокой или такой же, как и нагрузочная дозу, которую вводят сначала. В другом варианте осуществления поддерживающая доза антитела может быть более низкой или такой же, как и нагрузочная доза.

[0202] В другом варианте осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 составлены для внутривенного введения. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят на 1 и 28 сутки каждого курса.

[0203] В другом варианте осуществления курс введения составляет четыре недели, который при необходимости может быть повторен.

[0204] В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016 и антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 представляет собой МК-4280 и антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 представляет собой REGN3767 и антитело против PD-1 представляет собой REGN2810. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 представляет собой LAG525 и антитело против PD-1 представляет собой PDR001. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой биспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3-1 представляет собой биспецифическое антитело. В конкретных вариантах осуществления биспецифическое антитело связывает как PD-1, так и LAG-3. В одном варианте осуществления биспецифическое антитело против PD-1/LAG-3 представляет собой TSR-075. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело против PD-1/LAG-3 представляет собой MGD013. В конкретных вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело против PD-L1/LAG-3. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело против PD-L1/LAG-3 представляет собой FS-118.

[0205]

[0206] В другом аспекте изобретение относится к любому из вышеупомянутых вариантов осуществления, где антитело против PD-1 заменено посредством или скомбинировано с антителом против PD-L1 или антителом против PD-L2.

12. Исходы

[0207] Пациент, которого лечат способами, описанными в настоящем описании,

предпочтительно имеет улучшение по меньшей мере одного признака злокачественной опухоли. В одном варианте осуществления улучшение определяют по уменьшению количества и/или размера поддающихся измерению очагов повреждения. В другом варианте осуществления очаги повреждения можно определять на рентгенограмме органов грудной клетки или снимках СТ или MRI. В другом варианте осуществления цитологию или гистологию можно использовать для оценки способности отвечать на терапию.

[0208] В одном варианте осуществления подвергаемый лечению пациент демонстрирует полный ответ (CR), частичный ответ (PR), стабильное заболевание (SD), иммуноопосредуемое полное заболевание (irCR), иммуноопосредуемый частичный ответ (irPR) или иммуноопосредуемое стабильное заболевание (irSD). В другом варианте осуществления пациент, подвергаемый лечению, имеет сокращение опухоли и/или снижение скорости роста, т.е. подавление роста опухоли. В другом варианте осуществления нежелательная пролиферация клеток снижается или ингибируется. В другом варианте осуществления может происходить одно или несколько из следующих: количество клеток может быть уменьшено; размер опухоли может быть уменьшен; может происходить ингибирование, торможение, замедление или остановка инфильтрации злокачественных клеток в периферические органы; может происходить замедление или ингибирование метастазирования опухоли; может происходить ингибирование роста опухоли; может происходить предупреждение или отсрочивание рецидива опухоли; может происходить некоторое облегчение одного или нескольких из симптомов, ассоциированных со злокачественной опухолью.

[0209] В других вариантах осуществления введение эффективных количеств антитела против LAG-3 и антитела против PD-1 в соответствии с любыми из способов, описанных в настоящем описании, обеспечивает по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из уменьшения размера опухоли, уменьшения количества метастатических очагов, появляющихся с течением времени, полной ремиссии, частичной ремиссии или стабильного заболевания.

[0210] В других вариантах осуществления способы лечения обеспечивают лучший процент пациентов с клиническим улучшением ($CBR=CR+PR+SD \geq 6$ месяцев), чем достигается посредством способа лечения, который не включает стадию (i) определения уровня экспрессии LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 в образце опухоли перед лечением, и (ii) лечение опухоли. В других вариантах осуществления повышение процента пациентов с клиническим улучшением составляет приблизительно 20%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более по сравнению со способом лечения, который не включает стадию (i) определения уровня экспрессии LAG-3, PD-L1 и/или BRAF V600 в образце опухоли перед лечением, и (ii) лечения опухоли. В других вариантах осуществления способы лечения обеспечивают частоту объективного ответа ($ORR=CR+PR$) 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 80%, по меньшей мере приблизительно 90%, или приблизительно 100%.

13. Наборы и единичные дозированные формы

[0211] Также в объем настоящего изобретения входят диагностические наборы, содержащие антитело против LAG-3 для анализа экспрессии LAG-3 в качестве биомаркера для скрининга пациентов для иммунотерапии или для прогнозирования эффективности иммунотерапии. Наборы, как правило, включают ярлык, указывающий на предполагаемое применение содержимого набора и инструкции по применению. Термин "ярлык" включает любой письменный или сохраненный материал, предоставленный на или с набором, или который иным образом сопровождает набор. В определенных вариантах осуществления диагностического набора первое антитело против LAG-3 для анализа, детекции и/или количественного определения экспрессии LAG-3 совместно упаковано по меньшей мере с одним терапевтическим антителом (например, второе антитело против LAG-3 и антитело против PD-1) для лечения метастазирующей или нерезектабельной меланомы. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит антитело против PD-L1 для анализа, детекции и/или количественного определения экспрессии PD-L1 в качестве биомаркера для прогнозирования эффективности иммунотерапии. В одном варианте осуществления иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 (например, антитело против LAG-3) и ингибитора каскада PD-1 (например, антитело против PD1).

[0212] В определенных вариантах осуществления диагностический набор содержит моноклональное антитело против LAG-3 человека для анализа, детекции и/или количественного определения экспрессии LAG-3. См., например, J. Matsuzaki, *et al.*; *PNAS* 107, 7875 (2010).

[0213] Также в рамках настоящего изобретения предусматриваются терапевтические наборы, которые включают фармацевтическую композицию, содержащую антитело против LAG-3, такое как BMS-986016, и антитело против PD-1, такое как ниволумаб, в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для применения в описанных выше способах. В определенных вариантах осуществления терапевтического набора антитело против LAG-3 совместно упаковано с антителом против PD-1 в единичной дозированной форме. Наборы также необязательно могут включать инструкции, например, включающие схемы введения, чтобы позволить практикующему специалисту (например, врач, медсестра или пациент) вводить композицию, содержащуюся в нем, пациенту, имеющему злокачественную опухоль (например, солидную опухоль). Набор также может включать шприц.

[0214] Необязательно, диагностические и/или терапевтические наборы включают множество упаковок фармацевтических композиций в однократных дозах, каждая из которых содержит эффективное количество антитела против LAG-3 или антитела против

PD-1 для однократного введения в соответствии со способами, описанными выше. Также в наборы могут быть включены инструменты или устройства, необходимые для введения фармацевтической композиции(ий). Например, в наборе может быть предоставлен один или несколько предварительно заполненных шприцов, содержащих некоторое количество антитела против LAG-3 или антитела против PD-1.

[0215] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится набору для лечения пациента, страдающего от метастазирующей или нерезектабельной меланомы, причем набор, включает, например:

[0216] (а) дозу антитела против LAG-3, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5;

[0217] (b) дозу антитела против PD-1, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 21; и

[0218] (с) инструкции по применению антитела против LAG-3 и антитела против PD-1 в способах, описанных в настоящем описании.

[0219] В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой метастазирующую или нерезектабельную меланому.

[0220] Настоящее изобретение далее иллюстрируется приведенными ниже примерами, которые не следует ограничивать как дополнительно ограничивающие. Содержание всех ссылок, цитированных на протяжении настоящей заявки, включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1

Эффективность антитела против белка гена активации лимфоцитов 3 (антитело против LAG-3; BMS-986016) в комбинации с ниволумабом у пациентов с ранее не подвергаемой лечению метастазирующей или нерезектабельной меланомой

[0221] Целью настоящего исследования является оценка комбинации BMS-986016 (релатлимаб) и ниволумаба (BMS936558) при лечении метастазирующей или нерезектабельной меланомы.

[0222] Пациентов отбирают на основе следующих критериев пригодности для включения: (1) наличие метастазирующей или нерезектабельной меланомы; (2) отсутствие предшествующей системной терапии метастазирующего или нерезектабельного заболевания; (3) показатель в соответствии с восточной кооперативной онкологической группой PS 0-1; (4) опухолевая ткань, доступная для анализа биомаркеров. Пациентов стратифицируют по: (1) экспрессии опухолевыми клетками PD-L1 ($\geq 1\%$ или $< 1\%$), определенной с использованием набора Dako PD-L1 IHC 28-8 kit; (2) экспрессии иммунными клетками LAG-3 ($\geq 1\%$ или $< 1\%$), определенной с использованием антитела

мышы клона 17B4; (3) экспрессии мутанта BRAF V600 против BRAF дикого типа; и (4) стадии согласно Американскому объединенному онкологическому комитету (8-е издание).

[0223] В ходе фазы лечения взрослым пациентам вводят 160 мг BMS-986016 (релатлимаб) и 480 мг ниволумаба в каждом курсе лечения каждые четыре недели. Взрослые пациенты в возрасте 12-17 должны иметь показатель общего состояния по Лански, превышающий или равный 80%. Взрослым пациентам массой менее 40 кг вводят BMS-986016 (релатлимаб) в дозе 2 мг/кг и ниволумаб в дозе 6 мг/кг в ходе каждого курса лечения каждые четыре недели.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO: 1, аминокислотная последовательность тяжелой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINH
 RGSTNSNPSLKS RVTLSLDTSKNQFSLKLR SVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWG
 QGTLVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
 TFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCPA
 PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY
 TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSR
 LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO: 2, аминокислотная последовательность легкой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASN RAT
 GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIKRTVAAPSVFIF
 PPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSS
 TLTL SKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 3, аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH); mAb против LAG-3 (BMS-986016)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINH
 RGSTNSNPSLKS RVTLSLDTSKNQFSLKLR SVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWG
 QGTLVTVSS

SEQ ID NO: 4, нуклеотидная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH); mAb против LAG-3 (BMS-986016)

caggtgcagctacagcagtgaggcgcaggactgtgaagcctcggagaccctgtccctcacctgcgctgtctatgggggtcc
 ttcagtgactactggaactggatccgccagccccaggaaggggctggagtgattggggaatcaatcatcggaagcaccact
 ccaaccgtccctcaagatcgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgaggtctgtgaccgccgga
 cacggctgtgtactgtgcgtttggatagtagtactacgagtagcaactggttcgaccctggggccaggaaccctgtcaccgtctc
 a

SEQ ID NO: 5, аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL); mAb против LAG-3 (BMS-986016)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT
GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIK

SEQ ID NO: 6, нуклеотидная последовательность варибельной области легкой цепи (VL); mAb против LAG-3 (BMS-986016)

gaaattgtgttgacacagctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagta
ttagcagctacttagcctggtagccaacagaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcaccaacagggccactggcatccca
gccaggtcagtgccagtggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagatttgcagtttattactgtcagcag
cgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaacctggagatcaaa

SEQ ID NO: 7, аминокислотная последовательность CDR1 тяжелой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

DYYWN

SEQ ID NO: 8, аминокислотная последовательность CDR2 тяжелой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

EINHRGSTNSNPSLKS

SEQ ID NO: 9, аминокислотная последовательность CDR3 тяжелой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

GYSDYEYNWFDP

SEQ ID NO: 10, аминокислотная последовательность CDR1 легкой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

RASQSISSYLA

SEQ ID NO: 11, аминокислотная последовательность CDR2 легкой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

DASNRAT

SEQ ID NO: 12, аминокислотная последовательность CDR3 легкой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

QQRSNWPLT

SEQ ID NO: 13, аминокислотная последовательность тяжелой цепи; mAb против PD-1 (BMS936558)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVI
YDGSKRYIYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLV
TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVEVKYGPCCPPCPAPEFLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO: 14, аминокислотная последовательность легкой цепи; mAb против PD-1 (BMS936558)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF

IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL
SSTLLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 15, аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи (VH); mAb против PD-1 (BMS936558)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIW
YDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLV
TVSS

SEQ ID NO: 16, нуклеотидная последовательность варибельной области тяжелой цепи (VH); mAb против PD-1 (BMS936558)

caggtgcagctggtagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactcgactgtaaagcgtctggaatca
ccttcagtaactctggcatgactgggtccgccaggtccaggaaggggctggagtggtggcagttatttggtatgatggaagtaaaag
atactatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtttctgcaaatgaacagcctgagagccg
aggacacggctgtgtattactgtgcgacaacagcagactactggggccaggaacacctggtcaccgtctcctca

SEQ ID NO: 17, аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи (VL); mAb против PD-1 (BMS936558)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 18, нуклеотидная последовательность варибельной области легкой цепи (VL); mAb против PD-1 (BMS936558)

gaaattgtgtgacacagtctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctctgcagggccagtcagagtg
ttagtagtacttagctggtaccaacagaacctggccaggtccaggtcctcatctatgatgatccaacagggccactggcatccca
gccaggtcagtgccagtggtctgggacagacttcaactcaccatcagcagcctagagcctgaagatttgcagtttattactgtcagcag
agtagcaactggcctcggacgttcggccaagggaccaaggtggaatcaaa

SEQ ID NO: 19, аминокислотная последовательность CDR1 тяжелой цепи; mAb против PD-1 (BMS936558)

NSGMH

SEQ ID NO: 20, аминокислотная последовательность CDR2 тяжелой цепи; mAb против PD-1 (BMS936558)

VIWYDGSKRYYADSVKG

SEQ ID NO: 21, аминокислотная последовательность CDR3 тяжелой цепи; mAb против PD-1 (BMS936558)

NDDY

SEQ ID NO: 22, аминокислотная последовательность CDR1 легкой цепи; mAb против PD-1 (BMS936558)

RASQSVSSYLA

SEQ ID NO: 23, аминокислотная последовательность CDR2 легкой цепи; mAb против PD-1 (BMS936558)

DASNRAT

SEQ ID NO: 24, аминокислотная последовательность CDR3 легкой цепи; mAb против PD-1 (BMS936558)

QQSSNWPRT

SEQ ID NO: 25, нуклеотидная последовательность тяжелой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

caggtgcagctacagcagtgaggcggcagggactgtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtcc
 ttcagtgattactactggaactggatccgccagccccagggaaagggctggagtgattgggaaatcaatcatcgtggaagcaccact
 ccaaccgtccctcaagagtcgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagttcctcctgaagctgaggtctgtgaccgccgga
 cacggctgtgtattactgtgcgtttggatagatgactacgagtacaactggttcgaccctggggccagggaaacctggtcaccgtctctc
 agctagcaccaagggcccacccgtcttccccctggcgccctgtccaggagcacctccgagagcacagccgccctgggctgctggtca
 aggactactccccgaaccgggtgacgggtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgacaccttcccggctgctctacagctctc
 aggacttactccctcagcagcgtggtagccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccag
 caacaccaaggtggacaagagagttgagtcacaatattggtccccatgccaccatgccagcacctgagttctgggggaccatcagt
 ctctctgttcccccaaaaccaaggactctcatgatctccggaccctgaggtcacgtgctggtggtagctgagccaggaagac
 cccgaggtccagttcaactggtagctggatggcgtggaggtgataatgccaagacaagccgaggaggagcagttcaacgacagta
 ccgtggtgtagcgtcctcaccgtctgacaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggtctcaacaaggcctcccgtc
 ctccatcgagaaaacctctccaaagccaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccatcccaggaggagatgacc
 aagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaggcttctacccagcagatcggcgtggagtgaggagcaatgggagccggaga
 acaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctccttctctacagcaggttaacctggacaagagcaggtggcagg
 aggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctcctgtctctgggtaaata
 ga

SEQ ID NO: 26, нуклеотидная последовательность легкой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016)

Gaaattgtgtgacacagcttccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagta
 ttagcagctactagcctggtaccaacagaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcca
 gccaggtcagtgccagtggtgctgggacagacttcactctaccatcagcagcctagagcctgaagattttgagtttattactgtcagcag
 cgtagcaactggcctctcactttggccaggggaccaacctggagatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcctct
 gatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgctgctgaataacttctatcccagagagggcacaagtagcagtggaaggtggataac
 gccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctga
 gcaaagcagactacgagaaacacaagctacgcctgcgaagtcaccatcagggcctgagctcggccgtcacaagagcttcaacagg
 ggagagtgttag

SEQ ID NO: 27, эпитоп LAG-3

PGHPLAPG

SEQ ID NO: 28, эпитоп LAG-3

HPAAPSSW

SEQ ID NO: 29, эпитоп LAG-3

PAAPSSWG

SEQ ID NO: 30, аминокислотная последовательность тяжелой цепи; mAb против LAG-3 (BMS-986016) без концевой лизина

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINH
 RGSTNSNPSLKSRLVTLSDTSKNQFSLKLRVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWG
 QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVH
 TFPVAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPA

PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSR
LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение антагониста LAG-3 и ингибитора каскада PD-1 в производстве фармацевтической композиции для лечения метастазирующей меланомы у пациента-человека,

где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы.

2. Применение фармацевтической композиции, содержащей антагонист LAG-3 и (b) ингибитор каскада PD-1, для лечения метастазирующей меланомы у пациента-человек,

где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы.

3. Применение по п. 1 или 2, где фармацевтическая композиция предназначена для адъювантной терапии после хирургической операции опухоли.

4. Применение первой фармацевтической композиции, содержащей антагонист LAG-3, для лечения метастатической меланомы у пациента-человека, где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы, в комбинации со второй фармацевтической композицией, содержащей ингибитор каскада PD-1.

5. Применение по п. 4, где первая и вторая фармацевтические композиции предназначены для адъювантной терапии после хирургической операции опухоли.

6. Применение антагониста LAG-3 и ингибитора каскада PD-1 в производстве фармацевтической композиции для лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы.

7. Применение фармацевтической композиции, содержащей антагонист LAG-3 и ингибитор каскада PD-1, для лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы.

8. Применение первой фармацевтической композиции, содержащей антагонист LAG-3, для лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы, в комбинации со второй фармацевтической композицией, содержащей ингибитор каскада PD-1.

9. Применение по любому из пп.6-8, где пациент имеет гистологически подтвержденную нерезектабельную меланому стадии III или IV.

10. Применение по любому из пп.1-9, где пациент имеет показатель общего состояния в соответствии с Восточной кооперативной онкологической группой (ECOG) 0 или 1 и/или поддающееся определению заболевание при определении посредством критериев оценки ответа солидных опухолей (RECIST) версии 1.1.

11. Применение по любому из пп.1-10, где более 1% инфильтрирующих опухоль

лимфоцитов пациента экспрессируют LAG-3, и/или где более 1% опухолевых клеток пациента экспрессируют PD-L1.

12. Применение по любому из пп.1-11, где опухолевые клетки пациента содержат BRAF с мутацией V600.

13. Применение по любому из пп.1-12, где антагонист LAG-3 представляет собой IMP321.

14. Применение по любому из пп.1-12, где антагонист LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, и/или ингибитор каскада PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или против PD-L1..

15. Применение по п.14, где антитело против LAG-3 представляет собой полноразмерное антитело.

16. Применение по п.15, где антитело представляет собой моноклональное, человеческое, гуманизированное, химерное или мультиспецифическое антитело.

17. Применение по п.16, где мультиспецифическое антитело представляет собой перенацеливающее антитело с двойной аффинностью (DART), DVD-Ig или биспецифическое антитело.

18. Применение по п.14, где антитело против LAG-3 представляет собой F(ab')₂-фрагмент, Fab'-фрагмент, Fab-фрагмент, Fv-фрагмент, scFv-фрагмент, dsFv-фрагмент, dAb-фрагмент или одноцепочечный связывающий полипептид.

19. Применение по п.14, где антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016, IMP731 (H5L7BW), MK-4280 (28G-10), REGN3767, GSK2831781, гуманизированное BAP050, IMP-701 (LAG-525), aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmAb22841, MGD013, BI754111, FS118, P13B02-30 или AVA-017.

20. Применение по любому из пп.14-19, где антитело против LAG-3 содержит:

(a) домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5;

(b) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, 8 и 9; соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 10, 11 и 12, соответственно;

(c) варибельные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 3 и 5, соответственно; или

(d) тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно.

21. Применение по любому из пп.14-20, где антитело против PD-1 выбрано из группы, состоящей из: ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, PDR001, MEDI0680, TSR-042, REGN2810, JS001, PF-06801591, BGB-A317, BI 754091 и SHR-1210.

22. Применение по любому из пп.14-20, где антитело против PD-1 содержит:

(a) домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющей последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17;

(b) домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, содержащие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19-2, соответственно,

и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, содержащие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 22-24, соответственно;

(c) вариабельные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 15 и 17, соответственно; или

т(д) яжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно;

23. Применение по любому из пп.1-22, где антитело против LAG-3 предназначено для введения в дозе 160 мг, антитело против PD-1 предназначено для введения в дозе 480 мг.

24. Применение по любому из пп. 14-22, где пациент-человек представляет собой подростка, и антитело против LAG-3 предназначено для введения в дозе 2 мг/кг, и антитело против PD-1 предназначено для введения в дозе 6 мг/кг.

25. Применение по любому из пп. 1-24, где антагонист LAG-3 и ингибитор каскада PD-1 составлены для парентерального введения.

26. Применение по любому из пп.25, где антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 составлены для внутривенного введения, внутривнутрибрюшинного, внутримышечного, интратекального или подкожного введения.

27. Комбинация, содержащая антагонист LAG-3 и ингибитор каскада PD-1, для лечения метастатической меланомы у пациента-человека, где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы, где антагонист LAG-3 и ингибитор каскада PD-1 составлены вместе в фармацевтическую композицию.

28. Комбинация, содержащая антагонист LAG-3 и ингибитор каскада PD-1, для лечения метастатической меланомы у пациента-человека, где пациенту не проводили предшествующее системное лечение метастазирующей меланомы, где антагонист LAG-3 и ингибитор пути PD-1 составлены в виде отдельных фармацевтических композиций.

29. Комбинация по п. 27 или 28 для адьювантной терапии после хирургической операции опухоли.

30. Комбинация, содержащая антагонист LAG-3 и ингибитор каскада PD-1, для лечения нерезектабельной опухоли меланомы у пациента-человека, где пациенту не проводили предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы, при этом антагонист LAG-3 и ингибитор пути PD-1 составлены вместе в фармацевтическую композицию.

31. Комбинация, содержащая антагонист LAG-3 и ингибитор пути PD-1, для лечения нерезектабельной меланомы у пациента-человека, где пациенту не проводили

предшествующее системное лечение нерезектабельной меланомы, при этом антагонист LAG-3 и ингибитор пути PD-1 составлены в виде отдельных фармацевтических композиций.

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202490263**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

МПК:

A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

СПК:

A61K 39/395
A61P 35/00**Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

A61K 39/395, A61P 35/00

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, используемые поисковые термины)
Espacenet, EAPATIS, Google, Reaxys**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	WO 2015042246 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 2015-03-26 реферат, формула пп.1-23, с.16-17, табл. 3, пример 10	1-31
X	EA 201792273 A1 (БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ КОМПАНИ) 2018-04-30 реферат, формула пп.1-8,13,15,86-93,100	27-28, 30,31
Y	-----//-----	1-26,29
Y	ASCIERTO PAOLO ANTONIO ET AL, Initial efficacy of anti-lymphocyte activation gene-3 (anti-LAG-3; BMS-986016) in combination with nivolumab (nivo) in pts with melanoma (MEL) previously treated with anti-PD-1/PD-L1 therapy. JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, 2017-05-30, Vol 35, No 15_suppl. реферат	1-31
Y	Study: NCT03470922. A Study of Relatlimab Plus Nivolumab Versus Nivolumab Alone in Participants With Advanced Melanoma (RELATIVITY-047), ClinicalTrials.gov, 2018-10-08 [онлайн][найдено 2024-08-12]. Найдено в < https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT03470922?tab=history&a=14#StudyPageTop > "Study Details"	1-31

 последующие документы указаны в продолжении графы

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

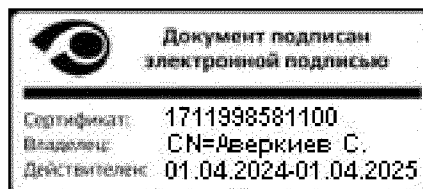
«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 14 августа 2024 (14.08.2024)

Уполномоченное лицо:
Начальник Управления экспертизы

С.Е. Аверкиев