



**República Federativa do Brasil**

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,  
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial



**(11) BR 122022010109-7 B1**

**(22) Data do Depósito:** 12/05/2017

**(45) Data de Concessão:** 16/07/2024

---

**(54) Título:** USO DE UM ANTICORPO OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO QUE SE LIGA ESPECIFICAMENTE A PD-1

**(51) Int.Cl.:** C07K 16/28; A61N 5/00; A61N 5/10.

**(30) Prioridade Unionista:** 10/06/2016 US 62/348,546; 12/08/2016 US 62/374,020; 13/05/2016 US 62/335,743; 15/06/2016 US 62/350,305; 21/07/2016 US 62/364,920; (...).

**(73) Titular(es):** REGENERON PHARMACEUTICALS, INC..

**(72) Inventor(es):** ISRAEL LOWY; MATTHEW G. FURY.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2017032408 de 12/05/2017

**(87) Publicação PCT:** WO 2017/197263 de 16/11/2017

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 24/05/2022

**(62) Pedido Original do Dividido:** BR112018073291-5 - 12/05/2017

**(57) Resumo:** A presente invenção se refere a métodos para tratamento, redução da gravidade ou inibição do crescimento do câncer (por exemplo, câncer de pele). Os métodos da presente invenção compreendem administrar a um indivíduo em necessidade da mesma uma quantidade terapêuticamente eficaz de um antagonista de morte celular programada 1 (PD-1) (por exemplo, um anticorpo anti-PD-1). Em certas modalidades, o câncer de pele é carcinoma de células escamosas cutâneas ou carcinoma basocelular.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"USO DE UM ANTICORPO OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO QUE SE LIGA ESPECIFICAMENTE A PD-1"**.

Dividido do BR112018073291-5, depositado em 17.05.2017.

[0001] Este pedido foi depositado em 12 de maio de 2017 como um Pedido de Patente Internacional PCT e reivindica o benefício de prioridade para os pedidos provisórios US 62/335,743, depositado em 13 de maio de 2016; US 62/340,142, depositado em 23 de maio de 2016; US 62/348,546, depositado em 10 de junho de 2016; US 62/350,305, depositado em 15 de junho de 2016; US 62/364,920, depositado em 21 de julho de 2016; US 62/374,020, depositado em 12 de agosto de 2016; e US 62/451,274, depositado em 27 de janeiro de 2017, cujas descrições de cada um são aqui incorporadas por referência em sua totalidade.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[0002] A presente aplicação inclui uma Listagem de Sequências em formato eletrônico como um arquivo txt intitulado "LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS", que foi criado em 12 de maio de 2017 e que tem um tamanho de 8,63 quilobytes (KB). O conteúdo do arquivo txt "LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS" é incorporado por referência aqui.

CAMPO DA INVENÇÃO

[0003] A presente invenção se refere a métodos para o tratamento de câncer de pele, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade de tratamento uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo que se liga especificamente ao receptor de morte celular programada 1 (PD-1).

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[0004] O câncer de pele é o câncer mais comum nos Estados Unidos (Guy e outros, 2015, Am. J. Prev. Med. 48: 183-7). Estima-se que 5,4 milhões de casos de câncer de pele não melanoma, incluindo

carcinoma basocelular e carcinoma de células escamosas, foram diagnosticados nos Estados Unidos em 2012 (Rogers e outros, 2015, JAMA Dermatol., Publicado online em 30 de abril de 2015). O carcinoma de células escamosas cutâneas (CSCC) é a segunda malignidade mais comum nos EUA, após o carcinoma basocelular (BCC) (Karia e outros, 2013, J. Am. Acad. Dermatol. 68: 957 a 966). Os fatores de risco para CSCC incluem exposição a UV, idade avançada e imunossupressão (Alam e outros, 2001, New Engl. J. Med. 344 (975 a 983); Madan 2010, Lancet 375: 673 a 685). Embora a grande maioria dos indivíduos com diagnóstico de CSCC ou BCC tenha um prognóstico muito favorável, o CSCC tem uma maior propensão para recidivas agressivas do que o BCC. Indivíduos diagnosticados com CSCC, ao contrário daqueles diagnosticados com BCC, têm um aumento da mortalidade em comparação com controles pareados por idade (Rees e outros 2015, Int. J. Cancer 137: 878-84).

[0005] A ressecção cirúrgica é a peça central do gerenciamento clínico de CSCC. O objetivo principal é a ressecção completa de câncer, e o resultado cosmético aceitável é um objetivo secundário. Fatores associados com mau prognóstico em CSCC incluem tamanho do tumor > 2 cm, profundidade do tumor > 2 mm, invasão perineural, imunossupressão do hospedeiro e lesões recorrentes. Para a pequena porcentagem de pacientes que desenvolvem doença localmente recorrente não ressecionável ou doença metastática, as opções de tratamento são limitadas. Os pacientes podem receber radioterapia pós-operatória. A quimioterapia não é uma opção atraente para muitos pacientes devido a preocupações com segurança e tolerabilidade.

[0006] O subtipo clínico mais comum é o BCC nodular. Os subtipos clínicos menos comuns são superficiais, morfeico (fibrosantes) e fibroepiteliais. A maioria dos pacientes é curada por cirurgia, mas uma pequena porcentagem dos pacientes desenvolve doença metastática

ou localmente avançada não resseccionável. Praticamente todos os BCCs são caracterizados por uma sinalização aberrante da via de sinalização hedgehog, mais comumente devido à mutação esporádica de perda de função no gene que codifica o homólogo de proteína patched (PTCH), um supressor de tumor. Uma mutação de PTCH resulta na perda da inibição mediada por patches do receptor acoplado à proteína G Smoothened (SMO), aumentando assim a sinalização à jusante que resulta na proliferação celular descontrolada (Sekulic e outros, 2016, Cell 164: 831). O reconhecimento do papel oncogênico de SMO no BCC levou ao desenvolvimento de vismodegib e sonidegib, inibidores oralmente disponíveis de SMO, geralmente chamados de Inibidores de Hedgehog (HHIs). Além dos efeitos colaterais adversos dos HHIs, verificou-se que para os pacientes que progrediram em um HHI (vismodegib), o tratamento subsequente com outro HHI (sonedegib) não resultou em inibição do tumor (Danial e outros 2016, Clin. Cancer Res 22: 1325-29). Não há agente aprovado para o BCC em pacientes que apresentaram progressão da doença em terapia com HHI ou que são intolerantes à terapia prévia com HHI.

[0007] Portanto, há uma necessidade de terapias sistêmicas seguras e eficazes para o câncer de pele, incluindo CSCC e BCC.

#### BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0008] De acordo com certas modalidades, a presente invenção fornece métodos para tratar ou melhorar ao menos um sintoma ou indicação, ou inibir o crescimento de câncer em um indivíduo. Os métodos de acordo com este aspecto da invenção compreendem administrar a um indivíduo em necessidade do mesmo uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente morte celular programada 1 (PD-1), opcionalmente, em combinação com radioterapia.

[0009] De acordo com certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar câncer incluindo um tumor sólido, os métodos compreendendo selecionar um indivíduo com um câncer e administrar uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com uma ou mais doses de radioterapia. Em certas modalidades, a administração da combinação resulta em eficácia terapêutica aumentada ou eficácia antitumoral em comparação com a administração ou do anticorpo ou da radiação somente.

[00010] Em certas modalidades da presente invenção, são fornecidos métodos para tratar ou melhorar ao menos um sintoma ou indicação, ou inibir o crescimento de câncer em um indivíduo. Em certas modalidades da presente invenção, são fornecidos métodos para retardar o crescimento de um tumor ou prevenir a recorrência do tumor. Em certas modalidades da presente invenção, são fornecidos métodos para aumentar a sobrevida geral ou isenta de progressão de um paciente com câncer. Os métodos, de acordo com este aspecto da invenção, compreendem administrar sequencialmente uma ou mais doses de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1. Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é administrado em combinação com radioterapia.

[00011] Em certas modalidades, o câncer ou tumor é um tumor sólido ou malignidade. Em certas modalidades, o tumor sólido é selecionado a partir do grupo que consiste em câncer colorretal, câncer de ovário, câncer da próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer de endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, e mieloma.

[00012] Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado como um tratamento de "primeira linha" para um paciente com câncer, onde o paciente não recebeu tratamento sistêmico prévio para o câncer. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado como tratamento de 'segunda linha' a um paciente com câncer (por exemplo, câncer metastático), onde o paciente foi previamente tratado com terapia de 'padrão de cuidado' incluindo, mas não limitado à quimioterapia, cirurgia e radiação.

[00013] Uma modalidade da invenção se refere a um anticorpo anti-PD-1 para uso no tratamento de câncer de pele. Em certas modalidades, o câncer de pele é um câncer de pele não melanoma incluindo, mas não limitado a carcinoma de células escamosas cutâneas e carcinoma basocelular. O anticorpo anti-PD-1 pode ser administrado, como aqui descrito, a um paciente com carcinoma de células escamosas cutâneo metastático ou localmente avançado. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado, como aqui descrito, a um paciente com carcinoma basocelular avançado, onde o paciente é intolerante a um inibidor da via de sinalização Hedgehog (por exemplo, vismodegib, sonedegib) ou foi tratado com um inibidor da via de sinalização Hedgehog e apresenta doença progressiva.

[00014] Em certas modalidades, cada dose de anticorpo anti-PD-1 compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo. Em certas modalidades, cada dose de anticorpo anti-PD-1 compreende 0,3, 1, 3, 5 ou 10 mg/kg do peso corporal do indivíduo. Em certas modalidades, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 20 a 600 mg. Em uma modalidade, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende aproximadamente 200 mg. Em uma modalidade, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende aproximadamente 250 mg. Em uma modalidade, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende aproximadamente 350 mg.

[00015] Em certas modalidades, a radioterapia é administrada em uma ou mais doses. Em certas modalidades, cada dose de radioterapia compreende 2 - 100 Gray (Gy). Em certas modalidades, a radioterapia é uma radioterapia hipofracionada. Em certas modalidades, a radioterapia compreende 2 a 12 frações.

[00016] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 antes, ao mesmo tempo ou subsequente à radioterapia. Em uma modalidade, os métodos da presente invenção compreendem administrar um anticorpo anti-PD-1 antes de uma dose de radioterapia.

[00017] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem administrar de 0 a 50 doses terapêuticas cada de um anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 0,5 a 12 semanas após a dose imediatamente anterior. Em uma modalidade, cada dose é administrada 1 semana após a dose imediatamente anterior. Em uma modalidade, cada dose é administrada 2 semanas após a dose imediatamente anterior. Em uma modalidade, cada dose é administrada 3 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00018] Em certas modalidades, uma ou mais doses de anticorpo anti-PD-1 e, opcionalmente, radioterapia são compreendidos em um ciclo de tratamento. Os métodos, de acordo com este aspecto da invenção, compreendem administrar a um indivíduo em necessidade de tratamento ao menos um ciclo de tratamento onde ao menos um ciclo de tratamento compreende uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1. Em certas modalidades, até 12 ciclos de tratamento são administrados a um indivíduo em necessidade do mesmo. Em certas modalidades, ao menos um ciclo de tratamento compreende ainda uma ou mais doses de radioterapia. Em certas modalidades, a radioterapia é administrada em apenas um ciclo de tratamento. Em certas

modalidades, a radioterapia é uma radioterapia hipofracionada. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado antes da radioterapia.

[00019] Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 e a radioterapia são administrados em combinação com um agente terapêutico ou terapia adicional (por exemplo, ciclofosfamida, ou qualquer agente ou terapia aqui descrita).

[00020] Em certas modalidades, o tratamento produz um ou mais efeitos terapêuticos selecionados a partir do grupo que consiste em regressão do tumor, de inibição do efeito abscopal de metástase de tumor, redução de lesões metastáticas ao longo do tempo, o uso reduzido de agentes quimioterápicos ou citotóxicos, redução na carga de tumor, aumento na sobrevida livre de progressão, aumento na sobrevida geral, resposta completa, resposta parcial e doença estável.

[00021] De acordo com certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 ou proteína de ligação ao antígeno compreende as regiões determinantes de complementaridade de cadeia pesada (HCDRs) de uma região variável de cadeia pesada (HCVR) compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1 e as CDRs de cadeia leve de uma região variável de cadeia leve (LCVR) compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. Tal tipo de proteína de ligação ao antígeno que pode ser utilizado no contexto dos métodos da presente invenção é um anticorpo anti-PD-1 tal como REGN2810.

[00022] Em certas modalidades, a presente invenção fornece a utilização de um anticorpo anti-PD-1 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo na fabricação de um medicamento para tratar ou inibir o crescimento de câncer em um indivíduo, incluindo seres humanos. Em certas modalidades, o câncer é um tumor sólido. Em certas modalidades, o câncer é o câncer colorretal, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer



cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer do endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, ou mieloma.

[00023] Em certas modalidades, a presente invenção fornece a utilização de um anticorpo anti-PD-1 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo na fabricação de um medicamento em combinação com radioterapia para tratar ou inibir o crescimento de câncer em um indivíduo, incluindo seres humanos. Em certas modalidades, o câncer é um tumor sólido. Em certas modalidades, o câncer é câncer colorretal, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer do endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, ou mieloma.

[00024] Em um aspecto, a presente invenção fornece um kit para tratar um indivíduo afligido com um câncer, o kit compreendendo: (a) uma dosagem de um anticorpo ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente e inibe PD-1; e (b) instruções para utilizar o anticorpo anti-PD-1 para tratar o indivíduo de acordo com os métodos aqui descritos. Em certas modalidades, o câncer é selecionado a partir do grupo que consiste em câncer colorretal, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer do endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, ou mieloma.

[00025] Outras modalidades da presente invenção tornar-se-ão evidentes a partir de uma revisão da descrição detalhada que se segue.

#### BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[00026] A Figura 1 mostra o modelo do estudo incluindo dosagem de um anticorpo anti-PD-1 e radiação (XRT) em camundongos implantados com tumores MC38 (estudo descrito no Exemplo 1).

[00027] A Figura 2 mostra o crescimento médio do tumor em camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●), anticorpo anti-PD-1 (■), controle de isotipo + radiação (XRT) (▲), ou anticorpo anti-PD-1 + XRT (▼) no estudo descrito no Exemplo 1.

[00028] A Figura 3 mostra a sobrevida geral de camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●), anticorpo anti-PD-1 (■), controle de isotipo + radiação (XRT) (▲), ou anticorpo anti-PD-1 + XRT (▼) no estudo descrito no Exemplo 1.

[00029] A Figura 4 mostra o modelo de estudo incluindo dosagem de um anticorpo anti-PD-1 e radiação (XRT) em camundongos implantados com tumores B16F10.9 (estudo descrito no Exemplo 2).

[00030] A Figura 5 mostra o crescimento médio do tumor em camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●), anticorpo anti-PD-1 (■), controle de isotipo + radiação (XRT) (◆), ou anticorpo anti-PD-1 + XRT (O) no estudo descrito no Exemplo 2.

[00031] A Figura 6 mostra a sobrevida geral de camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●), anticorpo anti-PD-1 (■), controle de isotipo + radiação (XRT) (◆) ou anticorpo anti-PD-1 + XRT (O) no estudo descrito no Exemplo 2.

[00032] A Figura 7 mostra o modelo de estudo incluindo dosagem de um anticorpo anti-PD-1 e radiação (XRT) em camundongos implantados com tumores MC38 (estudo descrito no Exemplo 4).

[00033] A Figura 8 mostra o crescimento médio do tumor primário em camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●),

anticorpo anti-PD-1 (■), controle de isotipo + radiação (XRT) (▲) ou anticorpo anti-PD-1 + XRT (▼) no estudo descrito no Exemplo 4.

[00034] A Figura 9 mostra a sobrevida geral de camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●), anticorpo anti-PD-1 (■), controle de isotipo + radiação (XRT) (▲), ou anticorpo anti-PD-1 + XRT (▼) no estudo descrito no Exemplo 4.

[00035] A Figura 10 mostra o crescimento de tumor secundário em camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●), anticorpo anti-PD-1 (■), controle de isotipo + radiação (XRT) (▲) ou anticorpo anti-PD-1 + XRT (▼) no estudo descrito no Exemplo 4.

[00036] A Figura 11 mostra o modelo de estudo incluindo dosagem de um anticorpo anti-PD-1, um anticorpo anti-GITR, e radiação (XRT) em camundongos implantados com tumores MC38 (estudo descrito no Exemplo 5).

[00037] A Figura 12 mostra o crescimento médio do tumor em camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●), anticorpo anti-PD-1 (■), anticorpo anti-GITR (▲), combinação de anticorpo anti - PD - 1 e anti- Anticorpo GITR (▼), controle de isotipo + radiação (XRT) (◆), anticorpo anti-PD-1 + XRT (O), anticorpo anti-GITR + XRT (□), ou combinação de anticorpo anti-PD-1, anticorpo anti-GITR + XRT (Δ) no estudo descrito no Exemplo 5.

[00038] A Figura 13 mostra a sobrevida geral de camundongos tratados com o anticorpo de controle de isotipo (●), anticorpo anti-PD-1 (■), anticorpo anti-GITR (▲), combinação de anticorpo anti-PD-1 e anticorpo anti-GITR (▼), isotipo controle + radiação (XRT) (◆), anticorpo anti-PD-1 + XRT (O), anticorpo anti-GITR + XRT (□), ou combinação de anticorpo anti-PD-1, anticorpo anti-GITR + XRT (Δ) no estudo descrito no Exemplo 5.

[00039] A Figura 14A mostra uma imagem radiográfica de metástases pulmonares em um paciente com carcinoma basocelular

(BCC) indicado por setas no início do estudo, esquerda e na 24<sup>a</sup> semana, à direita.

[00040] A Figura 14B mostra uma imagem radiográfica da massa cervical em um paciente com carcinoma de células escamosas cutâneas (CSCC) no início do estudo, esquerda, e na 16<sup>a</sup> semana, à direita.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA

[00041] Antes da presente invenção ser descrita, deve ser entendido que esta invenção não está limitada a métodos particulares e condições experimentais descritas, pois tais métodos e condições podem variar. É também para ser entendido que a terminologia usada aqui é para o propósito de descrever apenas modalidades particulares, e não pretende ser limitante, uma vez que o escopo da presente invenção será limitado apenas pelas reivindicações em anexo.

[00042] A menos que definido de outra forma, todos os termos técnicos e científicos aqui utilizados têm o mesmo significado que o normalmente entendido por um versado na técnica à qual esta invenção pertence. Como aqui utilizado, o termo "aproximadamente", quando usado em referência a um valor numérico particular citado, significa que o valor pode variar do valor citado em não mais do que 1%. Por exemplo, tal como aqui utilizado, a expressão "aproximadamente 100" inclui 99 e 101 e todos os valores entre eles (por exemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

[00043] Embora quaisquer métodos e materiais similares ou equivalentes aos aqui descritos possam ser utilizados na prática da presente invenção, os métodos e materiais preferenciais são agora descritos. Todas as publicações aqui mencionadas são aqui incorporadas por referência para descrever na sua totalidade.

#### Métodos de tratamento ou inibição do crescimento do câncer

[00044] A presente invenção inclui métodos para tratar, melhorar ou

reduzir a gravidade de ao menos um sintoma ou indicação, ou inibir o crescimento de um câncer em um indivíduo. Os métodos de acordo com este aspecto da invenção compreendem administrar a um indivíduo em necessidade de tratamento uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado em combinação com uma terapia antitumoral (aqui descrita em outro local). Em uma modalidade, a terapia antitumoral é a radioterapia. Como usado aqui, os termos "tratar", "tratando", ou similares, significam aliviar os sintomas, eliminar a causa dos sintomas tanto temporária como permanentemente, retardar ou inibir o crescimento do tumor, reduzir a carga de células tumorais ou a carga de tumor, para promover a regressão do tumor, para provocar o encolhimento, necrose e/ou desaparecimento do tumor, para prevenir a recorrência do tumor, para prevenir ou inibir a metástase, para inibir o crescimento do tumor metastático e/ou para aumentar a duração da sobrevida do indivíduo.

[00045] Como usado aqui, a expressão "um indivíduo em necessidade de tratamento" significa um mamífero humano ou não humano que exibe um ou mais sintomas ou indicações de câncer, e/ou que foi diagnosticado com câncer, incluindo um tumor sólido e quem necessita de tratamento para o mesmo. Em muitas modalidades, o termo "indivíduo" pode ser usado de forma intercambiável com o termo "paciente". Por exemplo, um indivíduo humano pode ser diagnosticado com um tumor primário ou metastático e/ou com um ou mais sintomas ou indicações incluindo, mas não limitado a perda de peso inexplicada, fraqueza geral, fadiga persistente, perda de apetite, febre, suores noturnos, dor óssea, falta de ar, abdômen inchado, dor/pressão no peito, aumento do baço e elevação do nível de um biomarcador relacionado ao câncer (por exemplo, CA125). A expressão inclui indivíduos com

tumores primários ou estabelecidos. Em modalidades específicas, a expressão inclui indivíduos humanos que têm e/ou necessitam de tratamento para um tumor sólido, por exemplo, câncer do cólon, câncer de mama, câncer de pulmão, câncer da próstata, câncer de pele, câncer de fígado, câncer de ossos, câncer do de ovário, câncer cervical, câncer de pâncreas, câncer de cabeça e pescoço e câncer cerebral. O termo inclui indivíduos com tumores primários ou metastáticos (malignidades avançadas). Em certas modalidades, a expressão "um indivíduo em necessidade de tratamento" inclui pacientes com um tumor sólido que é resistente ou refratária ou é inadequadamente controlado por terapia prévia (por exemplo, tratamento com um agente anticancerígeno). Por exemplo, a expressão inclui indivíduos que foram tratados com uma ou mais linhas de terapia prévia, tal como tratamento com quimioterapia (por exemplo, carboplatina ou docetaxel). Em certas modalidades, a expressão "um indivíduo em necessidade de tratamento" inclui pacientes com um tumor sólido que foi tratado com uma ou mais linhas de terapia prévia mas que subsequentemente recidivou ou metastizou. Por exemplo, pacientes com um tumor sólido que pode ter recebido tratamento com um ou mais agentes anticâncer, levando à regressão do tumor; no entanto, subsequentemente recidivaram com um câncer resistente a um ou mais agentes anticâncer (por exemplo, câncer resistente à quimioterapia) são tratados com os métodos da presente invenção. A expressão também inclui indivíduos com um tumor sólido para o qual a terapia anticâncer convencional é desaconselhável, por exemplo, devido a efeitos colaterais tóxicos. Por exemplo, a expressão inclui pacientes que receberam um ou mais ciclos de quimioterapia com efeitos colaterais tóxicos.

[00046] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção podem ser usados para tratar pacientes que apresentam níveis elevados de um ou mais biomarcadores associados ao câncer [por

exemplo, ligante de morte celular programada 1 (PD-L1), CA125, CA19-9, antígeno prostático específico (PSA), lactato desidrogenase, KIT, antígeno carcinoembrionário, receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), rearranjo do gene ALK]. Por exemplo, os métodos da presente invenção compreendem administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia a um paciente com um nível elevado de PD-L1 e/ou EGFR. Em uma modalidade preferencial, os métodos da presente invenção são utilizados em pacientes com câncer que são selecionados com base na expressão de PD-L1 em tecido canceroso. Em certas modalidades, os métodos da presente invenção são utilizados para tratar pacientes com um câncer em que os pacientes são selecionados com base em ao menos 1%, ao menos 2%, ao menos 5%, ao menos 10%, ao menos 20%, ao menos 30%, ao menos 40% ou ao menos 50% da expressão de PD-L1 em tecido canceroso e/ou células imunes. Os métodos para determinar a expressão de PD-L1 em tecido canceroso e/ou células imunes são bem conhecidos na técnica. Em certas modalidades, a expressão de PD-L1 no tecido tumoral é determinada por qualquer ensaio conhecido na técnica, por exemplo, por um ensaio ELISA ou por um ensaio imuno-histoquímico (IHC), como descrito nas publicações PCT WO2016124558 ou WO2016191751 ou Publicação de Pedido de Patente US20160305947. Em certas modalidades, a expressão de PD-L1 é determinada quantificando a expressão de RNA, por exemplo, por hibridização no local ou por RT-PCR. Em certas modalidades, a expressão de PD-L1 é determinada por imagiologia com um anticorpo anti-PD-L1 marcado, por exemplo, por tomografia de emissão de imunopósitron ou iPET [Ver, por exemplo, *The Oncologist*, 12: 1379 (2007); *Journal of Nuclear Medicine*, 52 (8): 1171 (2011); Pedido de Patente Provisório US No. 62 /428.672, depositado em 1º de dezembro de 2016].

[00047] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção são utilizados em um indivíduo com um tumor sólido. Os termos "tumor", "câncer" e "malignidade" são utilizados aqui de forma intercambiável.

[00048] Como usado aqui, o termo "tumor sólido" se refere a uma massa anormal de tecido que geralmente não contém cistos ou áreas líquidas. Os tumores sólidos podem ser benignos (não cancerosos) ou malignos (câncer). Para os propósitos da presente invenção, o termo "tumor sólido" significa tumores sólidos malignos. O termo inclui diferentes tipos de tumores sólidos nomeados para os tipos de células que os formam, a saber, sarcomas, carcinomas e linfomas. No entanto, o termo não inclui leucemias. Em várias modalidades, o termo "tumor sólido" inclui cânceres que surgem de tecido conjuntivo ou de suporte (por exemplo, osso ou músculo) (chamados de sarcomas), cânceres que surgem das células glandulares do corpo e células epiteliais que revestem tecidos corporais (chamados de carcinomas), e cânceres dos órgãos linfoides, tal como nódulos linfáticos, baço e timo (chamados de linfomas). As células linfoides ocorrem em quase todos os tecidos do corpo e, portanto, os linfomas podem se desenvolver em uma ampla variedade de órgãos. Em certas modalidades, o termo "tumor sólido" inclui cânceres incluindo, mas não limitados a, câncer colorretal, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer do endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, ou mieloma. Em certas modalidades, o termo "tumor sólido" inclui cânceres incluindo, mas não limitados a carcinoma hepatocelular, câncer de pulmão de não pequenas células, câncer de células escamosas da cabeça e pescoço, carcinoma basocelular, carcinoma de mama, carcinoma de células



escamosas cutâneas, condrossarcoma, angiossarcoma, colangiocarcinoma, sarcoma de partes moles, câncer colorretal, melanoma, carcinoma das células de Merkel, e glioblastoma multiforme. Em certas modalidades, o termo "tumor sólido" compreende mais do que uma lesão tumoral sólida localizada separada uma da outra, por exemplo, 2, mais de 2, mais de 5, mais de 10, mais de 15, mais de 20 ou mais de 25 lesões em um indivíduo em necessidade de tratamento. Em certas modalidades, mais de uma lesão estão localizadas distalmente uma da outra no mesmo órgão. Em certas outras modalidades, as lesões tumorais podem estar localizadas em diferentes órgãos.

[00049] Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar ou inibir o crescimento de um câncer incluindo, mas não limitado a, câncer colorretal, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer do endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, ou mieloma. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar ou inibir o crescimento de um câncer incluindo, mas não limitado a carcinoma hepatocelular, câncer de pulmão de não pequenas células, câncer de células escamosas da cabeça e pescoço, carcinoma basocelular, carcinoma de células escamosas cutâneas, condrossarcoma, angiossarcoma, colangiocarcinoma, sarcoma de partes moles, câncer colorretal, melanoma, carcinoma de células de Merkel e glioblastoma multiforme. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar tumores sólidos avançados incluindo, mas não limitados a, carcinoma metastático de células escamosas cutâneas (CSCC), CSCC localmente avançado não

resseccionável, câncer colorretal metastático, câncer hepatocelular avançado ou metastático, câncer de pulmão avançado de células não pequenas, carcinoma basocelular, glioblastoma multiforme recorrente, câncer de próstata recorrente em castração e qualquer tumor sólido avançado refratário à terapia de primeira linha. Os métodos, de acordo com este aspecto, compreendem administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1. Em certas modalidades, os métodos compreendem administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com uma terapia antitumoral. Terapias antitumorais incluem, mas não estão limitadas a terapias antitumorais convencionais tais como quimioterapia, radiação, cirurgia. Outras terapias antitumorais são descritas em outro local aqui. Em uma modalidade, a terapia antitumoral compreende radioterapia. Em certas modalidades, uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo em necessidade de tratamento, onde cada dose é administrada a 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, cada dose compreende de 0,1 a 10 mg/kg (por exemplo, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg ou 10 mg/kg) do peso corporal do indivíduo. Em certas outras modalidades, cada dose compreende de 20 a 600 mg do anticorpo anti-PD-1, por exemplo, 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 400 mg ou 500 mg do anticorpo anti-PD-1.

[00050] Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar um câncer ou inibir o crescimento de um câncer com instabilidade de microssatélites (MSI). Como aqui utilizado, o termo "instabilidade de microssatélites", também conhecido como "MSI", se refere às alterações nas repetições de microssatélites em células tumorais ou à hipermutabilidade genética causada devido à reparação deficiente de incompatibilidade de DNA. Os microssatélites, também conhecidos como repetições de sequência simples, são sequências

repetidas de DNA compreendendo unidades de repetição com 1 a 6 pares de bases de comprimento. Embora o comprimento dos microssatélites seja altamente variável de pessoa para pessoa e contribua para a impressão digital do DNA, cada indivíduo tem microssatélites de comprimento definido. O MSI resulta da incapacidade das proteínas de reparo de pareamentos errôneos (MMR) para corrigir um erro de replicação de DNA. MSI compreende polimorfismos de DNA, onde os erros de replicação variam em comprimento em vez de sequência. O MSI compreende mutações de deslocamento de quadro, ou através de inserções ou de deleções, ou hipermetilação, levando ao silenciamento do gene. É conhecido na técnica que a instabilidade de microssatélites pode resultar em câncer de cólon, câncer gástrico, câncer de endométrio, câncer de ovário, câncer do trato hepatobiliar, câncer do trato urinário, câncer cerebral e câncer de pele. A presente invenção inclui métodos para tratar cânceres com MSI, os métodos compreendendo administrar a um paciente em necessidade de tratamento uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1, opcionalmente, em combinação com radioterapia.

[00051] Uma modalidade da invenção se refere a um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810) para uso no tratamento de tumores sólidos avançados com MSI incluindo, mas não limitado a câncer colorretal metastático com MSI, câncer de endométrio metastático com MSI, e câncer de próstata recorrente em castração com MSI. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo com um tumor sólido avançado com MSI, onde cada dose compreende de 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo, e onde cada dose é administrada de 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo com um tumor sólido avançado com MSI, onde cada dose compreende de 20 a

600 mg do anticorpo anti-PD-1, e onde cada dose é administrada de 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00052] Como usado aqui, o termo "radioterapia", também chamado de "XRT" significa o uso de radiação ionizante para matar células cancerosas, geralmente como parte da terapia anticâncer. Raios-X, raios gama ou partículas carregadas (por exemplo, prótons ou elétrons) são usados para gerar radiação ionizante. A radioterapia pode ser realizada por uma máquina colocada fora do corpo do paciente (radioterapia por feixe externo) ou por uma fonte colocada dentro do corpo do paciente (radioterapia interna ou braquiterapia) ou através de radioisótopos sistêmicos administrados por via intravenosa ou oral (terapia radioisotópica sistêmica). A radioterapia pode ser planejada e administrada em conjunto com técnicas à base de imagens, tal como a tomografia computadorizada (CT), a ressonância magnética (MRI) para determinar com precisão a dose e a localização da radiação a ser administrada. Em várias modalidades, a radioterapia é selecionada a partir do grupo que consiste em radioterapia total em todo o corpo, radioterapia externa convencional, radiocirurgia estereotáxica, radioterapia estereotáxica corporal, radioterapia conformacional 3-D, radioterapia de intensidade modulada, radioterapia guiada por imagem, tomoterapia, braquiterapia e radioterapia sistêmica. Dependendo da intenção, em certas modalidades, a radioterapia é curativa, adjuvante ou paliativa. Em modalidades específicas, o termo "radioterapia" se refere à radioterapia hipofracionada. A radioterapia hipofracionada se refere à radioterapia em que uma dose de radiação é composta de 2 ou mais frações. Em várias modalidades, cada fração compreende de 2 a 20 Gy. Por exemplo, uma dose de radiação de 50 Gy pode ser dividida em 10 frações, cada uma compreendendo 5 Gy. Em certas modalidades, as 2 ou mais frações são administradas em dias consecutivos ou sequenciais. Em certas outras modalidades, as 2 ou

mais frações são administradas uma vez em 2 dias, uma vez em 3 dias, uma vez em 4 dias, uma vez em 5 dias, uma vez em 6 dias, uma vez em 7 dias, ou em uma combinação destas.

[00053] De acordo com certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar, ou retardar ou inibir o crescimento de um tumor. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para promover a regressão do tumor. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para reduzir a carga celular tumoral ou para reduzir a carga tumoral. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para prevenir a recorrência do tumor. Os métodos, de acordo com este aspecto da invenção, compreendem administrar sequencialmente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia a um indivíduo em necessidade de tratamento, onde o anticorpo é administrado ao indivíduo em múltiplas doses, por exemplo, como parte de um regime de dosagem terapêutico específico. Por exemplo, o regime de dosagem terapêutico pode compreender a administração de uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 ao indivíduo a uma frequência de aproximadamente uma vez por dia, uma vez a cada dois dias, uma vez a cada três dias, uma vez a cada quatro dias, uma vez a cada cinco dias, uma vez a cada seis dias, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas, uma vez a cada quatro semanas, uma vez por mês, uma vez a cada dois meses, uma vez a cada três meses, uma vez a cada quatro meses. Em certas modalidades, uma ou mais doses de anticorpo anti-PD-1 são administradas em combinação com uma ou mais doses de radioterapia, onde uma ou mais doses de radiação são administradas ao indivíduo a uma frequência de aproximadamente uma vez por dia, uma vez a cada dois dias, uma vez a cada três dias, uma vez a cada quatro dias, uma vez a cada cinco dias, uma vez a cada seis dias, uma vez por semana,

uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas, uma vez a cada quatro semanas, uma vez por mês, uma vez a cada dois meses, uma vez a cada três meses, uma vez a cada quatro meses ou menos frequentemente.

[00054] Em certas modalidades, uma ou mais doses estão compreendidas em um ciclo de tratamento. Os métodos, de acordo com este aspecto, compreendem administrar a um indivíduo em necessidade de tratamento ao menos um ciclo de tratamento, onde ao menos um ciclo de tratamento compreende 1 a 10 doses de um anticorpo anti-PD-1 e opcionalmente uma ou mais doses de radioterapia. Em certas modalidades, 2 a 12 ciclos de tratamento são administrados a um indivíduo em necessidade de tratamento.

[00055] Em modalidades específicas, a presente invenção fornece métodos para aumento da eficácia antitumoral ou aumento da inibição tumoral. Os métodos, de acordo com este aspecto da invenção, compreendem administrar a um indivíduo com um tumor sólido uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 antes da administração de uma dose de radiação, onde o anticorpo anti-PD-1 pode ser administrado aproximadamente 1 dia, mais de 1 dia, mais de 2 dias, mais de 3 dias, mais de 4 dias, mais de 5 dias, mais de 6 dias, mais de 7 dias ou mais de 8 dias antes da radioterapia. Em certas modalidades, os métodos fornecem uma maior inibição do tumor, por exemplo, aproximadamente 20%, mais de 20%, mais de 30%, mais de 40% mais de 50%, mais de 60%, mais de 70% ou mais do que 80% em comparação com um indivíduo administrado com uma dose de radiação antes do anticorpo anti-PD-1. Em certas modalidades, a radioterapia compreende radioterapia hipofracionada.

[00056] Em certas modalidades, a presente invenção fornece métodos para o tratamento do câncer, os métodos compreendendo selecionar um indivíduo com uma primeira lesão tumoral e ao menos

uma segunda lesão tumoral e administrar uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia de tal forma que ambas as lesões sejam tratadas. Em modalidades específicas, os métodos compreendem administrar radioterapia à primeira lesão tumoral, mas não à segunda lesão tumoral onde a administração conduz à regressão do tumor em ambas as lesões tumorais (efeito abscopal). Em certas modalidades, os métodos compreendem selecionar um indivíduo com uma primeira lesão tumoral e ao menos uma segunda lesão tumoral e administrar uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia hipofracionada onde a radioterapia hipofracionada é administrada à primeira lesão tumoral, mas não à segunda lesão tumoral e onde ambas as lesões são tratadas com essa administração. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado antes da radioterapia.

[00057] Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para o tratamento do câncer, os métodos compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade de tratamento uma ou mais doses subterapêuticas de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com uma ou mais terapias antitumorais, por exemplo, radioterapia. Tal como aqui definido em outro local, o termo "dose subterapêutica" se refere a uma dose inferior a uma dose terapêutica e pode ser utilizada para reduzir a toxicidade da terapia administrada. Em certas modalidades, a administração de uma dose subterapêutica de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia resulta em eficácia antitumoral terapêutica em comparação com a administração da dose subterapêutica do anticorpo anti-PD-1 somente. Em certas outras modalidades, os métodos da presente invenção compreendem administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com uma dose subterapêutica de uma terapia antitumoral, tal como quimioterapia ou radiação. Por exemplo, uma

quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 pode ser administrada em combinação com uma dose subterapêutica de ciclofosfamida, para eficácia aumentada em comparação com qualquer monoterapia.

[00058] Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para inibir, retardar ou parar a metástase do tumor ou infiltração do tumor em órgãos periféricos. Os métodos, de acordo com este aspecto, compreendem administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 a um indivíduo em necessidade de tratamento. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado em combinação com radiação. Em uma modalidade, a radiação é radiação hipofracionada. Em uma modalidade, a radiação é administrada após a administração de uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1.

[00059] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de anticorpo anti-PD-1 a um indivíduo com tumores sólidos avançados. Em modalidades específicas, o tumor sólido avançado é câncer de pulmão metastático, câncer da cabeça e pescoço, câncer hepatocelular ou câncer de mama. Em certas outras modalidades, o tumor sólido avançado é um câncer de células escamosas cutâneas. Em certas modalidades, o tumor sólido avançado é indolente ou agressivo. Em certas modalidades, o indivíduo não responde à terapia anterior ou recidivou após terapia anterior (por exemplo, com carboplatina). Em certas modalidades, o indivíduo tem um tumor sólido avançado que é refratário à quimioterapia de primeira linha. Em certas modalidades adicionais, os métodos da presente invenção compreendem ainda administrar radiação e/ou ciclofosfamida a um indivíduo com um tumor sólido avançado.

[00060] Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar ou inibir o crescimento de um câncer incluindo, mas não



limitado a, câncer colorretal, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer do endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, ou mieloma. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar ou inibir o crescimento de um câncer incluindo, mas não limitado a carcinoma hepatocelular, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de células escamosas da cabeça e pescoço, carcinoma basocelular, carcinoma de células escamosas cutâneas, condrossarcoma, angiossarcoma, colangiocarcinoma, sarcoma de partes moles, câncer colorretal, melanoma, carcinoma de células de Merkel e glioblastoma multiforme. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar tumores sólidos avançados incluindo, mas não limitados a, carcinoma metastático de células escamosas cutâneas (CSCC), CSCC localmente avançado não resseccionável, câncer colorretal metastático, câncer hepatocelular avançado ou metastático, câncer de pulmão avançado de células não pequenas, glioblastoma multiforme recorrente, glioblastoma multiforme recentemente diagnosticado, câncer de próstata recorrente em castração e qualquer tumor sólido avançado refratário à terapia de primeira linha.

[00061] De acordo com um aspecto, a presente invenção inclui métodos para tratar ou inibir o crescimento de um tumor, os métodos compreendendo: (a) selecionar um paciente com carcinoma de células escamosas cutâneas (CSCC) onde o paciente é selecionado com base em um atributo selecionado a partir do grupo que consiste em: (i) o paciente tem CSCC localmente avançado; (ii) o paciente tem CSCC metastático; (iii) o tumor não é resseccionável; (iv) o paciente foi tratado

anteriormente com ao menos uma terapia antitumoral; (v) o paciente tem doença considerada inoperável; (vi) cirurgia e/ou radiação é contraindicada; (vii) o paciente foi tratado anteriormente com radiação e o tumor é resistente ou não responde à radiação; (viii) o paciente tem CSCC localmente avançado e não é passível de cirurgia curativa; (ix) o tumor compreende danos no DNA induzidos por uv; e (x) o paciente apresenta expressão de PD-L1  $\geq 1\%$ ,  $\geq 5\%$  ou  $\geq 10\%$  em células tumorais; e (b) administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 ao paciente em necessidade de tratamento. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas 1-12 semanas após a dose imediatamente anterior, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 0,1, 1, 0,3, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 mg/kg do peso corporal do paciente. Em certas modalidades, cada dose compreende 50 a 500 mg do anticorpo anti-PD-1, por exemplo, 200 mg, 250 mg ou 350 mg do anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 0,5, 1, 2, 3 ou 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é REGN2810.

[00062] De acordo com um aspecto, a presente invenção inclui métodos para tratar ou inibir o crescimento de um tumor, os métodos compreendendo: (a) selecionar um paciente com carcinoma basocelular (BCC) onde o paciente é selecionado com base em um atributo selecionado a partir do grupo que consiste em: (i) o paciente tem BCC avançado localmente; (ii) o paciente tem BCC metastático; (iii) o tumor não é resseccionável; (iv) o paciente foi tratado anteriormente com ao menos uma terapia antitumoral; (v) o paciente foi tratado anteriormente e progrediu após tratamento com um inibidor da via de sinalização Hedgehog (por exemplo, vismodegib, sonedegib); (vi) o paciente é intolerante a um inibidor da via de sinalização Hedgehog; (vii) o paciente

tem doença que é considerada inoperável ou não é passível de cirurgia curativa; (viii) cirurgia e/ou radiação é contraindicada; (ix) o paciente foi tratado anteriormente com radiação e o tumor é resistente ou não responde à radiação; (viii) o paciente apresenta expressão de PD-L1  $\geq 1\%$ ,  $\geq 5\%$  ou  $\geq 10\%$  em células tumorais; e (ix) o tumor compreende danos no DNA induzidos por uv; e (b) administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 ao paciente em necessidade de tratamento. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas 1 a 12 semanas após a dose imediatamente anterior, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 0,1, 1, 0,3, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 mg/kg do peso corporal do paciente. Em certas modalidades, cada dose compreende 50 a 500 mg do anticorpo anti-PD-1, por exemplo, 200 mg, 250 mg ou 350 mg do anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 0,5, 1, 2, 3 ou 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é REGN2810.

[00063] Em certas modalidades, cada dose do anticorpo anti-PD-1 é administrada 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, ou 4 semanas após a dose imediatamente anterior, onde cada dose compreende 50 a 600 mg do anticorpo anti-PD-1. Em uma modalidade, cada dose compreende 200, 250, 300 ou 350 mg do anticorpo anti-PD-1.

[00064] Uma modalidade da invenção se refere a um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810) para uso no tratamento de colangiocarcinoma. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo com colangiocarcinoma, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo, e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades,

cada dose compreende 50 a 500 mg do anticorpo anti-PD-1, por exemplo, 200 mg, 250 mg ou 350 mg do anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 0,5, 1, 2, 3 ou 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00065] Uma modalidade da invenção se refere a um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810) para uso no tratamento de câncer hepatocelular avançado (HCC). Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo com HCC, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, cada dose compreende 50 a 500 mg do anticorpo anti-PD-1, por exemplo, 200 mg, 250 mg ou 350 mg do anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 0,5, 1, 2, 3 ou 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00066] Uma modalidade da invenção se refere a um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810) para uso no tratamento de sarcoma de partes moles. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo com sarcoma de partes moles, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo, e onde cada dose é administrada a 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, cada dose compreende 50 a 500 mg do anticorpo anti-PD-1, por exemplo, 200 mg, 250 mg ou 350 mg do anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 0,5, 1, 2, 3 ou 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00067] Uma modalidade da invenção se refere a um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810) para uso no tratamento de câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC). Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um

indivíduo com NSCLC, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo, e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo com NSCLC, onde cada dose compreende 50 a 600 mg do anticorpo anti-PD-1, e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00068] De acordo com um aspecto, a presente invenção inclui métodos para tratar ou inibir o crescimento de um tumor, os métodos compreendendo selecionar um indivíduo com um câncer no cérebro e administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno ao indivíduo em necessidade de tratamento. Em certas modalidades, o câncer no cérebro é glioblastoma multiforme. Em uma modalidade, o indivíduo tem glioblastoma multiforme recentemente diagnosticado. Em uma modalidade, o indivíduo tem  $\geq 65$  anos de idade. Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é administrado como uma ou mais doses, onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em uma modalidade, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 1, 3 ou 10 mg/kg do peso corporal do indivíduo. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado em combinação com radioterapia. Em uma modalidade, a radioterapia é uma radioterapia hipofracionada. Em uma modalidade, o indivíduo é administrado 20 a 60 Gy em 2 a 20 frações. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 estão compreendidas em um ou mais ciclos de tratamento, onde cada ciclo de tratamento compreende 1 a 6 doses do anticorpo anti-PD-1. Em uma modalidade, ao menos um ciclo de tratamento compreende ainda radioterapia. Em uma outra modalidade, a radioterapia é uma radioterapia hipofracionada. Em certas modalidades, o indivíduo é administrado com radioterapia

hipofracionada no primeiro ciclo de tratamento, onde a radioterapia hipofracionada compreende 20 a 60 Gy em 2 a 20 frações. Em uma modalidade, ao indivíduo é administrada radioterapia hipofracionada uma semana após a administração do anticorpo anti-PD-1 no primeiro ciclo de tratamento. Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem ainda a administração de um agente anti-angiogênico ao indivíduo se o indivíduo desenvolver edema intracraniano após administração do anticorpo anti-PD-1. Em uma modalidade, o agente anti-angiogênico é um inibidor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Em uma modalidade, o agente anti-angiogênico é um inibidor de angiopoietina-2 (Ang-2) (por exemplo, um anticorpo anti-Ang-2 tal como o nesvacumab). Em certas modalidades, o inibidor de VEGF é selecionado a partir do grupo que consiste em uma proteína de fusão inibidora de VEGF (por exemplo, um "VEGF-Trap" tal como aflibercept ou outra proteína de fusão inibidora de VEGF tal como estabelecido em US 7.087.411), um anticorpo anti-VEGF (por exemplo, bevacizumab) e um inibidor de quinase pequena molécula do receptor VEGF (por exemplo, sunitinibe, sorafenibe ou pazopanibe).

[00069] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia a um indivíduo em necessidade de tratamento como um tratamento de "primeira linha" (por exemplo, tratamento inicial). Em outras modalidades, um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia é administrado como um tratamento de "segunda linha" (por exemplo, após terapia anterior). Por exemplo, um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia é administrado como um tratamento de "segunda linha" a um indivíduo que recidivou após terapia anterior com, por exemplo, quimioterapia.

[00070] Os métodos da presente invenção, de acordo com certas

modalidades, compreendem administrar a um indivíduo uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 e radiação em combinação com um agente terapêutico adicional ou regime ou procedimento terapêutico. O agente terapêutico adicional ou regime ou procedimento terapêutico pode ser administrado para aumentar a eficácia antitumoral, para reduzir os efeitos tóxicos de uma ou mais terapias e/ou reduzir a dosagem de uma ou mais terapias. Em várias modalidades, o agente terapêutico adicional ou regime ou procedimento terapêutico é selecionado a partir do grupo que consiste, por exemplo, de quimioterapia, ciclofosfamida, cirurgia, uma vacina contra o câncer, um inibidor de ligante de morte celular programada 1 (PD-L1) (por exemplo, um Anticorpo anti-PD-L1), um inibidor do gene de ativação de linfócitos 3 (LAG3) (por exemplo, um anticorpo anti-LAG3), um inibidor da proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico (CTLA-4) (por exemplo, ipilimumab), um inibidor do receptor do fator de necrose tumoral induzido por glicocorticoide (GITR) (por exemplo, um anticorpo anti-GITR), um inibidor contendo imunoglobulina de células T e mucina 3 (TIM3), um inibidor de atenuador de linfócito B e linfócito T (BTLA), um imunorreceptor de células T com inibidor de domínios Ig e ITIM (TIGIT), um inibidor de CD47, um inibidor de indolamina-2,3-dioxigenase (IDO), um antagonista do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), um inibidor de angiopoietina-2 (Ang2), um inibidor de fator de crescimento transformante beta ( $TGF\beta$ ), um inibidor do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), um anticorpo para um antígeno tumor-específico [por exemplo, CA9, CA125, antígeno associado ao melanoma 3 (MAGE3), antígeno carcinoembrionário (CEA), vimentina, tumor-M2-PK, antígeno próstata-específico (PSA), mucina-1, MART -1, e CA19-9], um anticorpo biespecífico anti-CD3/anti-CD20, uma vacina (por exemplo, Bacillus Calmette-Guerin), fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos, uma citotoxina, um agente quimioterápico,

um inibidor de IL-6R, um inibidor de IL-4R, um inibidor de IL-10, uma citocina tal como IL-2, IL-7, IL-21 e IL-15, um fármaco anti-inflamatório tal como corticosteroides, e fármacos anti-inflamatórios não esteroides, e um suplemento dietário tal como antioxidantes. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 pode ser administrado em combinação com terapia incluindo um agente quimioterápico e cirurgia. Como aqui utilizada, a frase "em combinação com" significa que o anticorpo anti-PD-1 é administrado ao indivíduo ao mesmo tempo que, imediatamente antes ou imediatamente após a administração da radioterapia e o agente terapêutico adicional. Em certas modalidades, o agente terapêutico adicional é administrado como uma coformulação com o anticorpo anti-PD-1.

[00071] Uma modalidade da invenção se refere a uma combinação de um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810), radioterapia, ciclofosfamida e GM-CSF para uso no tratamento de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSCC). Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo com HNSCC, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, cada dose compreende 50 a 500 mg do anticorpo anti-PD-1, por exemplo, 200 mg, 250 mg ou 350 mg do anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 0,5, 1, 2, 3 ou 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00072] Uma modalidade da invenção se refere a uma combinação de um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810), radioterapia e ciclofosfamida para uso no tratamento do câncer de mama. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo com câncer de mama, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo e onde cada



dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00073] Uma modalidade da invenção se refere a uma combinação de um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810), radioterapia, ciclofosfamida e GM-CSF para uso no tratamento de tumores sólidos avançados em pacientes que foram previamente tratados com um anticorpo anti-PD-1 ou um anticorpo anti-PD-L1. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um paciente em necessidade de tratamento, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo, e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00074] Uma modalidade da invenção se refere a uma combinação de um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810), docetaxel e, opcionalmente, carboplatina para uso no tratamento de tumores sólidos avançados que são refratários à quimioterapia de primeira linha. Em certas modalidades, o docetaxel é administrado a uma dose baixa. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo em necessidade de tratamento, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo, e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[00075] Uma modalidade da invenção se refere a uma combinação de um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810), e radioterapia para uso no tratamento de glioblastoma multiforme (GBM) recentemente diagnosticado ou recorrente. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo em necessidade de tratamento, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo, e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em

certas modalidades, a radiação é radioterapia hipofracionada como aqui descrito.

[00076] Certas modalidades da invenção referem-se a uma combinação de um anticorpo anti-PD-1 (por exemplo, REGN2810) e radioterapia para uso no tratamento do carcinoma de células escamosas do colo do útero, carcinoma de células escamosas anais, carcinoma de células de Merkel, adenocarcinoma de intestino delgado ou carcinoma seroso ovariano. Em certas modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas a um indivíduo em necessidade de tratamento, onde cada dose compreende 0,1 a 20 mg/kg do peso corporal do indivíduo, e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, a radiação é radioterapia hipofracionada como aqui descrito.

[00077] Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratamento de tumores grandes ou malignidades avançadas, os métodos compreendendo a administração a um indivíduo em necessidade de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia e um agente terapêutico adicional, onde o agente terapêutico adicional é administrado para superar a imunossupressão mediada por células T reguladoras (Treg). Em certas modalidades, o agente terapêutico adicional é selecionado a partir do grupo que consiste em um anticorpo anti-GITR, um anticorpo anti-LAG3, ciclofosfamida e GM-CSF.

[00078] Como usado aqui, o termo "grande tumor" se refere ao tamanho do tumor. Normalmente, está correlacionado com maior carga tumoral. Em certas modalidades, está correlacionado com o estágio da doença, por exemplo, malignidade avançada. Em certas modalidades, está correlacionado com o aumento da probabilidade de metástase.

[00079] Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos

compreendendo a administração de uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com a radioterapia e uma dose subterapêutica de ciclofosfamida. Como aqui utilizado, uma dose subterapêutica de ciclofosfamida (também chamada aqui de "ciclofosfamida em baixa dose") significa uma quantidade de ciclofosfamida que por si só não confere um efeito terapêutico e de preferência não causa toxicidade. Doses exemplificativas de ciclofosfamida que são consideradas "subterapêuticas" no contexto da presente invenção incluem 100 mg/m<sup>2</sup>, 90 mg/m<sup>2</sup>, 80 mg/m<sup>2</sup> ou menos.

[00080] Em um aspecto, a presente invenção inclui métodos compreendendo a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radiação a um indivíduo que está em um regime terapêutico anticâncer. O regime terapêutico anticâncer pode compreender um curso de administração de, por exemplo, um agente quimioterápico. O anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia pode ser adicionado no topo do regime terapêutico anticâncer. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é adicionado como parte de um esquema de "diminuição gradual", onde a terapia anticâncer é gradualmente retirada do indivíduo ao longo do tempo (por exemplo, de uma forma gradual) enquanto o anticorpo anti-PD-1 é administrado ao indivíduo a uma dose constante, ou a uma dose crescente, ou a uma dose decrescente, ao longo do tempo. Por exemplo, a terapia anticâncer pode compreender um agente quimioterápico que pode ser administrado em uma dose baixa ou em uma dose subterapêutica. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos para tratar câncer, os métodos compreendendo a administração de uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia e uma ou mais doses de um agente quimioterápico, onde o agente quimioterápico é administrado em uma dose subterapêutica.

[00081] Em certas modalidades, a radioterapia é administrada a uma primeira lesão tumoral, mas não a uma segunda lesão tumoral, onde a administração em combinação com o anticorpo anti-PD-1 leva à regressão tumoral na primeira e na segunda lesão tumoral (efeito abscopal). Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia para gerar efeito abscopal prolongado.

[00082] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração a um indivíduo em necessidade de tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1, opcionalmente, em combinação com radioterapia, onde a administração da combinação leva ao aumento da inibição do crescimento do tumor. Em certas modalidades, o crescimento do tumor é inibido em ao menos aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70% ou aproximadamente 80% em comparação com um indivíduo não tratado ou um indivíduo administrado com anticorpo ou radiação como monoterapia. Em certas modalidades, a administração de um anticorpo anti-PD-1 e/ou radioterapia conduz a uma regressão do tumor aumentada, encolhimento e/ou desaparecimento do tumor. Em certas modalidades, a administração de um anticorpo anti-PD-1 e/ou radioterapia leva a retardo no crescimento e desenvolvimento do tumor, por exemplo, o crescimento do tumor pode ser retardado em aproximadamente 3 dias, mais de 3 dias, aproximadamente 7 dias, mais de 7 dias, mais de 15 dias, mais de 1 mês, mais de 3 meses, mais de 6 meses, mais de 1 ano, mais de 2 anos ou mais de 3 anos em comparação com um indivíduo não tratado ou um indivíduo tratado com anticorpo ou radiação como monoterapia. Em certas modalidades, a administração de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com

radioterapia previne a recorrência do tumor e/ou aumenta a duração da sobrevida do indivíduo, por exemplo, aumenta a duração da sobrevida em mais de 15 dias, mais de 1 mês, mais de 3 meses, mais de 6 meses, mais de 12 meses, mais de 18 meses, mais de 24 meses, mais de 36 meses, ou mais de 48 meses do que um indivíduo não tratado ou um indivíduo que é administrado anticorpo ou radiação como monoterapia. Em certas modalidades, a administração do anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia aumenta a sobrevida livre de progressão ou a sobrevida geral. Em certas modalidades, a administração de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia aumenta a resposta e duração da resposta em um indivíduo, por exemplo, mais de 2%, mais de 3%, mais de 4%, mais de 5%, mais de 6%, mais de 7%, mais de 8%, mais de 9%, mais de 10%, mais de 20%, mais de 30%, mais de 40% ou mais de 50% em relação a um indivíduo não tratado ou um indivíduo que recebeu anticorpo ou radiação como monoterapia. Em certas modalidades, a administração de um anticorpo anti-PD-1 e/ou radioterapia a um indivíduo com um câncer leva ao desaparecimento completo de todas as evidências de células tumorais ("resposta completa"). Em certas modalidades, a administração de um anticorpo anti-PD-1 e/ou radioterapia a um indivíduo com um câncer leva a ao menos 30% ou mais de diminuição nas células tumorais ou tamanho do tumor ("resposta parcial"). Em certas modalidades, a administração de um anticorpo anti-PD-1 e/ou radioterapia a um indivíduo com um câncer leva ao desaparecimento completo ou parcial de células/lesões tumorais incluindo novas lesões mensuráveis. A redução do tumor pode ser medida por qualquer um dos métodos conhecidos na técnica, por exemplo, raios X, tomografia de emissão de pósitrons (PET), tomografia computadorizada (TC), imagiologia por ressonância magnética (MRI), citologia, histologia, ou análises de genética molecular.

[00083] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção

compreendem a administração a um indivíduo em necessidade de tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1, onde a administração do anticorpo anti-PD-1 leva a aumento da sobrevida geral (OS) ou sobrevida livre de progressão (PFS) do paciente em comparação com um paciente administrado com uma terapia de 'padrão de cuidado' (SOC) (por exemplo, quimioterapia, cirurgia ou radiação). Em certas modalidades, a PFS é aumentada em ao menos um mês, ao menos 2 meses, ao menos 3 meses, ao menos 4 meses, ao menos 5 meses, ao menos 6 meses, ao menos 7 meses, ao menos 8 meses, ao menos 9 meses, ao menos 10 meses, ao menos 11 meses, ao menos 1 ano, ao menos 2 anos, ou ao menos 3 anos, em comparação com um paciente administrado com qualquer uma ou mais terapias SOC. Em certas modalidades, a OS é aumentada em ao menos um mês, ao menos 2 meses, ao menos 3 meses, ao menos 4 meses, ao menos 5 meses, ao menos 6 meses, ao menos 7 meses, ao menos 8 meses, ao menos 9 meses, ao menos 10 meses, ao menos 11 meses, ao menos 1 ano, ao menos 2 anos, ou ao menos 3 anos, em comparação com um paciente administrado com qualquer uma ou mais terapias SOC.

[00084] A presente invenção também fornece kits compreendendo um anticorpo anti-PD-1 para usos terapêuticos. Os kits normalmente incluem um rótulo indicando o uso pretendido do conteúdo do kit e as instruções de uso. O termo rótulo inclui qualquer material escrito ou gravado fornecido no kit ou com o kit ou que, de outra forma, acompanha o kit. Conseqüentemente, esta descrição fornece um kit para o tratamento de um indivíduo afetado por um câncer, o kit compreendendo: (a) uma dosagem de um anticorpo ou uma sua porção de ligação ao antígeno que se liga especificamente a PD-1 e inibe a atividade de PD-1; e (b) instruções para utilizar o anticorpo anti-PD-1 em qualquer um dos métodos de terapia aqui descritos. Em certas

modalidades para o tratamento de pacientes humanos, o kit compreende um anticorpo anti-PD-1 humano aqui descrito, por exemplo, REGN2810. Em outras modalidades, o anticorpo anti-PD-1 pode ser qualquer um de nivolumab, pembrolizumab ou qualquer um dos anticorpos anti-PD-1 aqui descritos. Em certas modalidades, a dosagem do anticorpo anti-PD-1 varia de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal. Em certas modalidades, a dosagem do anticorpo anti-PD-1 compreende de 50 a 600 mg.

#### Métodos para suprimir as células T reguladoras

[00085] De acordo com certos aspectos, a presente invenção fornece métodos para suprimir ou inibir a ativação e/ou proliferação de células T reguladoras (Treg). Em certas modalidades, a presente invenção fornece métodos para suprimir a atividade de células Treg. Os métodos, de acordo com estes aspectos, compreendem selecionar um indivíduo com um tumor sólido e administrar ao indivíduo um anticorpo anti-PD-1 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo em combinação com ao menos um de (i) radioterapia e (ii) um antagonista do receptor de fator de necrose tumoral induzido por glicocorticoides (GITR). Em certas modalidades, os métodos compreendem a administração, a um indivíduo em necessidade de tratamento, de um anticorpo anti-PD-1 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, em combinação com radioterapia e um antagonista de GITR.

[00086] Em certas modalidades, o antagonista GITR é um anticorpo anti-GITR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. De acordo com certas modalidades exemplificativas da presente invenção, o anticorpo anti-GITR ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (HCVR), região variável de cadeia leve (LCVR) e/ou regiões determinantes de complementaridade (CDRs) compreendendo as sequências de aminoácidos de qualquer um dos anticorpos anti-GITR como

estabelecido em USSN 62/256.922 (depositado em 18 de novembro de 2015), cujos conteúdos são aqui incorporados em sua totalidade. Outros anticorpos anti-GITR que podem ser utilizados no contexto dos métodos da presente invenção incluem qualquer um dos anticorpos anti-GITR como estabelecido, por exemplo, nas Patentes US. Nos. 9228016, 8709424, 8591886, 7812135, ou Publicação de Patente US. No 20150368349.

[00087] Em certas modalidades, a presente invenção fornece métodos para suprimir ou eliminar a atividade de Treg, os métodos compreendendo a administração de um anticorpo anti-PD-1 ou seu fragmento de ligação a antígeno em combinação com uma ou mais doses de radiação e um antagonista do antígeno-4 do linfócito T citotóxico (CTLA). Em certas modalidades, o antagonista de CTLA é um anticorpo anti-CTLA (por exemplo, ipilimumab).

[00088] Em certas modalidades, a presente invenção fornece métodos para suprimir ou eliminar a atividade de Treg, os métodos compreendendo a administração de um anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo em combinação com uma ou mais doses de radiação e um antagonista do gene de ativação de linfócitos 3 (LAG-3). Em certas modalidades, o antagonista de LAG-3 é um anticorpo anti-LAG-3. Os anticorpos anti-LAG-3 que podem ser utilizados no contexto dos métodos da presente invenção são descritos em USSN 15/289.032 (depositado em 7 de outubro de 2016), cujo conteúdo é aqui incorporado em sua totalidade.

[00089] Em certas modalidades, a presente invenção fornece métodos para suprimir ou eliminar a atividade de Treg, os métodos compreendendo a administração a um indivíduo em necessidade de tratamento de um anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo em combinação com uma ou mais doses de radiação e ciclofosfamida.



[00090] Em um aspecto, os métodos da presente invenção compreendem a administração de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia e um agente terapêutico adicional selecionado a partir do grupo que consiste em um antagonista de G1TR, um anticorpo anti-LAG-3, e ciclofosfamida a um indivíduo com um tumor sólido, onde a administração resulta em um efeito selecionado a partir do grupo que consiste da inibição do crescimento do tumor, redução no tamanho de um tumor, retardo no crescimento do tumor, inibição da metástase do tumor, redução nas lesões metastáticas ao longo do tempo, redução do uso de agentes quimioterápicos ou citotóxicos, aumento da sobrevida, resposta completa, resposta parcial e doença estável. Em certas modalidades, a administração resulta na redução da carga tumoral no indivíduo. Em certas modalidades, o indivíduo tem um tumor grande. Como definido em outro lugar aqui, o termo "tumor grande" se refere ao tamanho do tumor e está correlacionado com o aumento da carga tumoral e aumento da probabilidade de ocorrência de metástase. Em certas modalidades, o termo se refere a uma malignidade avançada.

#### Anticorpos Anti-PD-1 e fragmentos de ligação ao antígeno do mesmo

[00091] De acordo com certas modalidades exemplificativas da presente invenção, os métodos compreendem a administração de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. O termo "anticorpo", como usado aqui, inclui moléculas de imunoglobulina compreendendo quatro cadeias polipeptídicas, duas cadeias pesadas (H) e duas cadeias leves (L) interligadas por ligações dissulfeto, assim como multímeros destas (por exemplo, IgM). Em um anticorpo típico, cada cadeia pesada compreende uma região variável de cadeia pesada (aqui abreviada como HCVR ou VH) e uma região constante de cadeia pesada. A região constante de cadeia pesada compreende três domínios, CH1, CH2 e

CH3. Cada cadeia leve compreende uma região variável de cadeia leve (aqui abreviada como LCVR ou VL) e uma região constante de cadeia leve. A região constante de cadeia leve compreende um domínio (CL1). As regiões VH e VL podem ser ainda subdivididas em regiões de hipervariabilidade, denominadas regiões determinantes de complementaridade (CDRs), intercaladas com regiões que são mais conservadas, denominadas regiões estruturais (FR). Cada VH e VL é composto por três CDRs e quatro FRs, dispostas a partir do amino-terminal ao carbóxi-terminal na seguinte ordem: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Em diferentes modalidades da invenção, as FRs do anticorpo anti-IL-4R (ou sua porção de ligação ao antígeno) podem ser idênticas às sequências da linhagem germinativa humana, ou podem ser modificadas naturalmente ou artificialmente. Uma sequência consenso de aminoácidos pode ser definida com base em uma análise lado a lado de duas ou mais CDRs.

[00092] O termo "anticorpo", como aqui utilizado, também inclui fragmentos de ligação ao antígeno de moléculas de anticorpo total. Os termos "porção de ligação ao antígeno" de um anticorpo, "fragmento de ligação ao antígeno" de um anticorpo, e similares, como usados aqui, incluem qualquer polipeptídeo ou glicoproteína de ocorrência natural, enzimaticamente obtida, sintética ou geneticamente modificada que se liga especificamente a um antígeno para formar um complexo. Os fragmentos de ligação ao antígeno de um anticorpo podem ser derivados, por exemplo, de moléculas de anticorpo total utilizando quaisquer técnicas padrão adequadas, tais como técnicas de digestão proteolítica ou engenharia genética recombinante envolvendo a manipulação e expressão de domínios variáveis de anticorpo codificando DNA e opcionalmente constantes. Tal DNA é conhecido e/ou está prontamente disponível a partir de, por exemplo, fontes comerciais, bibliotecas de DNA (incluindo, por exemplo, bibliotecas de

fago-anticorpo), ou pode ser sintetizado. O DNA pode ser sequenciado e manipulado quimicamente ou utilizando técnicas de biologia molecular, por exemplo, para organizar um ou mais domínios variáveis e/ou constantes em uma configuração adequada, ou para introduzir códons, criar resíduos de cisteína, modificar, adicionar ou deletar aminoácidos, etc.

[00093] Exemplos não limitantes de fragmentos de ligação ao antígeno incluem: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos  $F(ab')_2$ ; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas Fv de cadeia simples (scFv); (vi) fragmentos de dAb; e (vii) unidades de reconhecimento mínimo que consistem nos resíduos de aminoácidos que mimetizam a região hipervariável de um anticorpo (por exemplo, uma região determinante de complementaridade isolada (CDR) tal como um peptídeo CDR3), ou um peptídeo FR3-CDR3-FR4 restringido. Outras moléculas manipuladas, tal como anticorpos domínio-específicos, anticorpos de domínio único, anticorpos com domínio deletado, anticorpos quiméricos, anticorpos CDR-enxertados, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, minicorpos, nanocorpos (por exemplo, nanocorpos monovalentes, nanocorpos bivalentes, etc.), pequenos imunofarmacêuticos modulares (SMIPs), e domínios IgNAR variáveis de tubarão, também estão englobados na expressão "fragmento de ligação ao antígeno", como usado aqui.

[00094] Um fragmento de ligação a um antígeno de um anticorpo compreenderá tipicamente ao menos um domínio variável. O domínio variável pode ser de qualquer tamanho ou composição de aminoácidos e compreender geralmente ao menos uma CDR que é adjacente ou em quadro com uma ou mais sequências estruturais. Nos fragmentos de ligação ao antígeno com um domínio VH associado a um domínio VL, os domínios VH e VL podem estar situados um em relação ao outro em qualquer disposição adequada. Por exemplo, a região variável pode ser

dimérica e conter dímeros VH-VH, VH-VL ou VL-VL. Alternativamente, o fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo pode conter um domínio VH ou VL monomérico.

[00095] Em certas modalidades, um fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo pode conter ao menos um domínio variável ligado covalentemente a ao menos um domínio constante. Configurações não limitantes, exemplificativas de domínios variáveis e constantes que podem ser encontradas dentro de um fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo da presente invenção incluem: (i) VH-CH1; (ii) VH-CH2; (iii) VH-CH3; (iv) VH-CH1-CH2; (v) VH-CH1-CH2-CH3; (vi) VH-CH2-CH3; (vii) VH-CL; (viii) VL-CH1; (ix) VL-CH2; (x) VL-CH3; (xi) VL-CH1-CH2; (xii) VL-CH1-CH2-CH3; (xiii) VL-CH2-CH3; e (xiv) VL-CL. Em qualquer configuração de domínios variáveis e constantes, incluindo qualquer das configurações exemplificativas listadas acima, os domínios variáveis e constantes podem estar diretamente ligados uns aos outros ou podem estar ligados por uma região de dobradiça ou de ligação completa ou parcial. Uma região de dobradiça pode consistir em ao menos 2 (por exemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 ou mais) aminoácidos que resultam em uma ligação flexível ou semiflexível entre domínios variáveis e/ou constantes adjacentes em uma única molécula de polipeptídeo. Além disso, um fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo da presente invenção pode compreender um homodímero ou heterodímero (ou outro multímero) de qualquer uma das configurações de domínio variável e constante listadas acima em associação não covalente entre si e/ou com um ou mais domínios VH ou VL monoméricos (por exemplo, por ligação(ões) dissulfeto).

[00096] O termo "anticorpo", como usado aqui, também inclui anticorpos multiespecíficos (por exemplo, biespecíficos). Um anticorpo multiespecífico ou fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo

compreende tipicamente ao menos dois domínios variáveis diferentes, onde cada domínio variável é capaz de se ligar especificamente a um antígeno separado ou a um epítopo diferente no mesmo antígeno. Qualquer formato de anticorpo multiespecífico pode ser adaptado para uso no contexto de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo da presente invenção utilizando técnicas de rotina disponíveis na técnica. Por exemplo, a presente invenção inclui métodos compreendendo o uso de anticorpos biespecíficos em que um braço de uma imunoglobulina é específico para PD-1 ou um fragmento do mesmo, e o outro braço da imunoglobulina é específico para um segundo alvo terapêutico ou é conjugado a uma porção terapêutica. Formatos biespecíficos exemplificativos que podem ser utilizados no contexto da presente invenção incluem, sem limitação, por exemplo, formatos biespecíficos à base de scFv ou de diacorpos, fusões de IgG-scFv, domínio de domínio variável duplo (DVD)-Ig, Quadroma, "knobs into holes", cadeia leve comum (por exemplo, cadeia leve comum com "knobs into holes", etc.), CrossMab, CrossFab (SEED), zíper de leucina, Duocorpo, IgG1/IgG2, formatos biespecíficos Fab de ação dupla (DAF)-IgG e Mab2 (ver, por exemplo, Klein e outros 2012, mAbs 4: 6, 1 a 11, e referências nele citadas, para uma revisão dos formatos anteriores). Os anticorpos biespecíficos podem também ser construídos utilizando conjugação peptídeo/ácido nucleico, por exemplo, onde os aminoácidos não naturais com reatividade química ortogonal são utilizados para gerar conjugados anticorpo-oligonucleotídeo sítio-específicos que depois se automontam em complexos multiméricos com composição, valência e geometria definidas. (Ver, por exemplo, Kazane e outros, J. Am. Chem. Soc. [Epub: 4 de dezembro de 2012]).

[00097] Os anticorpos utilizados nos métodos da presente invenção podem ser anticorpos humanos. O termo "anticorpo humano", como aqui utilizado, pretende incluir anticorpos tendo regiões variáveis e

constantes derivadas de sequências de imunoglobulina da linhagem germinativa humana. Os anticorpos humanos da invenção podem, no entanto, incluir resíduos de aminoácidos não codificados por sequências de imunoglobulina da linhagem germinativa humana (por exemplo, mutações introduzidas por mutagênese aleatória ou sítio-específica *in vitro* ou por mutação somática *in vivo*), por exemplo, nas CDRs e em particular CDR3. No entanto, o termo "anticorpo humano", como aqui utilizado, não pretende incluir anticorpos nos quais sequências de CDR derivadas da linhagem germinal de outra espécie de mamífero, tal como um camundongo, foram enxertadas em sequências estruturais humanas.

[00098] Os anticorpos utilizados nos métodos da presente invenção podem ser anticorpos humanos recombinantes. O termo "anticorpo humano recombinante", como usado aqui, é destinado a incluir todos os anticorpos humanos que são preparados, expressos, criados ou isolados por meios recombinantes, tal como anticorpos expressos usando um vetor de expressão recombinante transfectado em uma célula hospedeira), anticorpos isolados de uma biblioteca de anticorpos humanos combinatória recombinante (descrita mais adiante), anticorpos isolados de um animal (por exemplo, um camundongo) que é transgênico para genes de imunoglobulina humana [ver, por exemplo, Taylor e outros (1992) Nucl. Ácidos Res. 20: 6287 a 6295] ou anticorpos preparados, expressos, criados ou isolados por qualquer outro meio que envolva o splicing de sequências de genes de imunoglobulina humana com outras sequências de DNA. Tais anticorpos humanos recombinantes têm regiões variáveis e constantes derivadas de sequências de imunoglobulina da linhagem germinativa humana. Em certas modalidades, no entanto, tais anticorpos humanos recombinantes são submetidos à mutagênese *in vitro* (ou, quando é utilizado um animal transgênico para sequências de Ig humana,

mutagênese somática *in vivo*) e assim as sequências de aminoácidos das regiões VH e VL dos anticorpos recombinantes são sequências que, embora derivadas e relacionadas com sequências de VH e VL da linhagem germinativa humana, podem não existir naturalmente dentro do repertório da linhagem germinativa de anticorpo humano *in vivo*.

[00099] De acordo com certas modalidades, os anticorpos utilizados nos métodos da presente invenção ligam-se especificamente a PD-1. O termo "liga-se especificamente" ou similar, significa que um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, forma um complexo com um antígeno que é relativamente estável sob condições fisiológicas. Os métodos para determinar se um anticorpo se liga especificamente a um antígeno são bem conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, diálise de equilíbrio, ressonância plasmônica de superfície e similares. Por exemplo, um anticorpo que "liga-se especificamente" a PD-1, como usado no contexto da presente invenção, inclui anticorpos que se a ligam a PD-1 ou sua porção com um  $K_D$  inferior a aproximadamente 500 nM, inferior a 300 nM, inferior a aproximadamente 200 nM, inferior a aproximadamente 100 nM, inferior a aproximadamente 90 nM, inferior a aproximadamente 80 nM, inferior a 70 nM, inferior a aproximadamente 60 nM, inferior a aproximadamente 50 nM, inferior a aproximadamente 40 nM, inferior a aproximadamente 30 nM, inferior a aproximadamente 20 nM, inferior a aproximadamente 10 nM, inferior a aproximadamente 5 nM, inferior a aproximadamente 4 nM, inferior a aproximadamente 3 nM, inferior a aproximadamente 2 nM, inferior a aproximadamente 1 nM ou inferior a aproximadamente 0,5 nM, como medido em um ensaio de ressonância plasmônica de superfície. Um anticorpo isolado que se liga especificamente a PD-1 humana pode, no entanto, ter reatividade cruzada com outros antígenos, tais como moléculas PD-1 de outras espécies (não humanas).

[000100] De acordo com certas modalidades exemplificativas da

presente invenção, o anticorpo anti-PD-1, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (HCVR), região variável de cadeia leve (LCVR), e/ou regiões determinantes de complementaridade (CDR) compreendendo as sequências de aminoácidos de qualquer um dos anticorpos anti-PD-1 como estabelecido na Publicação de Patente US 20150203579, aqui incorporada em sua totalidade. Em certas modalidades exemplificativas, o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que pode ser utilizado no contexto dos métodos da presente invenção compreende as regiões determinantes de complementaridade de cadeia pesada (HCDRs) de uma região variável de cadeia pesada (HCVR) compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1 e as regiões determinantes de complementaridade da cadeia leve (LCDRs) de uma região variável de cadeia leve (LCVR) compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 2. De acordo com certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende três HCDRs (HCDR1, HCDR2 e HCDR3) e três LCDRs (LCDR1, LCDR2 e LCDR3), onde HCDR1 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 3; HCDR2 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 4; HCDR3 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 5; LCDR1 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 6; LCDR2 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 7; e LCDR3 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 8. Ainda em outras modalidades, o anticorpo anti-PD-1 ou o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende um HCVR compreendendo a SEQ ID NO: 1 e uma LCVR compreendendo SEQ ID NO: 2. Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a utilização de um anticorpo anti-PD-1, onde o anticorpo compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID



NO: 9. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10. Um anticorpo exemplar compreendendo uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 9 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10 é o anticorpo anti-PD-1 totalmente humano conhecido como REGN2810 e também conhecido como emplumab. De acordo com certas modalidades exemplificativas, os métodos da presente invenção compreendem a utilização de REGN2810, ou um seu bioequivalente. O termo "bioequivalente", como aqui utilizado, se refere a anticorpos anti-PD-1 ou proteínas de ligação a PD-1 ou seus fragmentos que são equivalentes farmacêuticos ou alternativas farmacêuticas cuja taxa e/ou extensão de absorção não mostram uma diferença significativa da de REGN2810 quando administrado na mesma dose molar em condições experimentais similares, ou dose única ou dose múltipla. No contexto da invenção, o termo se refere a proteínas de ligação ao antígeno que se ligam a PD-1 que não têm diferenças clinicamente significativas de REGN2810 na sua segurança, pureza e/ou potência.

[000101] De acordo com certas modalidades da presente invenção, o anti-PD-1 humano, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma HCVR com 90%, 95%, 98% ou 99% de identidade de sequência com SEQ ID NO: 1.

[000102] De acordo com certas modalidades da presente invenção, o anti-PD-1 humano, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma LCVR com 90%, 95%, 98% ou 99% de identidade de sequência com SEQ ID NO: 2.

[000103] De acordo com certas modalidades da presente invenção, o anti-PD-1 humano, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma HCVR compreendendo uma sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1 com não mais do que 5 substituições de

aminoácidos. De acordo com certas modalidades da presente invenção, anti-PD-1 humano, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma LCVR compreendendo uma sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 2 tendo não mais do que 2 substituições de aminoácidos.

[000104] A identidade da sequência pode ser medida por qualquer método conhecido na técnica (por exemplo, GAP, BESTFIT e BLAST).

[000105] A presente invenção também inclui a utilização de anticorpos anti-PD-1 em métodos para tratar câncer, onde os anticorpos anti-PD-1 compreendem variantes de qualquer uma das sequências de aminoácidos de HCVR, LCVR e/ou CDR aqui descritas tendo uma ou mais substituições conservativas de aminoácidos. Por exemplo, a presente invenção inclui a utilização de anticorpos anti-PD-1 tendo sequências de aminoácidos HCVR, LCVR e/ou CDR com, por exemplo, 10 ou menos, 8 ou menos, 6 ou menos, 4 ou menos, etc. substituições de aminoácidos em relação a qualquer das sequências de aminoácidos de HCVR, LCVR e/ou CDR aqui descritas.

[000106] Outros anticorpos anti-PD-1 que podem ser utilizados no contexto dos métodos da presente invenção incluem, por exemplo, os anticorpos ditos e conhecidos na técnica como nivolumab (Patente US No. 8008449), pembrolizumab (US Patente No. 8354509), MEDI0608 (Patente US No. 8609089), pidilizumab (Patente US No. 8686119), ou qualquer um dos anticorpos anti-PD-1 como estabelecido nas Patentes US. Nos. 6808710, 7488802, 8168757, 8354509, 8779105 ou 8900587.

[000107] Os anticorpos anti-PD-1 utilizados no contexto dos métodos da presente invenção podem ter características de ligação pH-dependentes. Por exemplo, um anticorpo anti-PD-1 para utilização nos métodos da presente invenção pode exibir uma ligação reduzida a PD-1 em pH ácido em comparação com pH neutro. Alternativamente, um anticorpo anti-PD-1 da invenção pode exibir uma ligação aumentada ao

seu antígeno em pH ácido, em comparação com o pH neutro. A expressão "pH ácido" inclui valores de pH inferiores a aproximadamente 6,2, por exemplo, aproximadamente 6,0, 5,95, 5,9, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 ou menos. Como aqui utilizado, a expressão "pH neutro" significa um pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4. A expressão "pH neutro" inclui valores de pH de aproximadamente 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 e 7,4.

[000108] Em certos casos, "ligação reduzida a PD-1 em pH ácido em comparação com pH neutro" é expressa em termos de uma relação entre o valor  $K_D$  da ligação do anticorpo que se liga a PD-1 em pH ácido para o valor  $K_D$  do anticorpo que se liga a PD-1 em pH neutro (ou vice-versa). Por exemplo, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo pode ser considerado como exibindo "ligação reduzida a PD-1 em pH ácido em comparação com pH neutro" para fins da presente invenção se o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo exibir uma razão  $K_D$  ácido/neutro de aproximadamente 3,0 ou mais. Em certas modalidades exemplificativas, a razão  $K_D$  ácido/neutro para um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno da presente invenção pode ser aproximadamente 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 40,0, 50,0, 60,0, 70,0, 100,0, ou superior.

[000109] Anticorpos com características de ligação pH-dependentes podem ser obtidos, por exemplo, por rastreamento de uma população de anticorpos para ligação reduzida (ou aumentada) a um antígeno particular em pH ácido em comparação com o pH neutro. Adicionalmente, modificações no domínio de ligação ao antígeno no nível de aminoácidos podem originar anticorpos com características pH-dependentes. Por exemplo, substituindo-se um ou mais aminoácidos de um domínio de ligação ao antígeno (por exemplo, dentro de uma CDR)

por um resíduo de histidina, um anticorpo com ligação reduzida do antígeno em pH ácido em relação a pH neutro pode ser obtido. Como aqui utilizado, a expressão "pH ácido" significa um pH de 6,0 ou inferior.

#### Terapias de Combinação

[000110] Os métodos da presente invenção, de acordo com certas modalidades, compreendem administrar ao indivíduo uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1. Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem administrar radioterapia em combinação com um anticorpo anti-PD-1 para atividade aditiva ou sinérgica para tratar câncer. Como aqui utilizado, a expressão "em combinação com" significa que a radioterapia é administrada antes, depois ou em simultâneo com o anticorpo anti-PD-1. O termo "em combinação com" também inclui a administração sequencial ou em simultâneo de anticorpo anti-PD-1 e radioterapia. Por exemplo, quando administrado "antes" da radioterapia, o anticorpo anti-PD-1 pode ser administrado mais de 150 horas, aproximadamente 150 horas, aproximadamente 100 horas, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, ou aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 15 minutos ou aproximadamente 10 minutos antes da administração da radioterapia. Quando administrado "após" a radioterapia, o anticorpo anti-PD-1 pode ser administrado aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas,

aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 72 horas ou mais de 72 horas após a administração da radioterapia. A administração "em simultâneo" com a radioterapia significa que o anticorpo anti-PD-1 é administrado ao indivíduo em menos de 10 minutos (antes, depois ou ao mesmo tempo) da administração da radioterapia.

[000111] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de um agente terapêutico adicional, onde o agente terapêutico adicional é um fármaco anticâncer. Como aqui utilizado, "fármaco anticâncer" significa qualquer agente útil para tratar o câncer incluindo, mas não limitado a citotoxinas e agentes tais como antimetabólitos, agentes alquilantes, antraciclinas, antibióticos, agentes antimitóticos, procarbazina, hidroxiureia, asparaginase, corticosteroides, mitotano. (O, P' - (DDD)), produtos biológicos (por exemplo, anticorpos e interferons) e agentes radioativos. Como aqui utilizado, "uma citotoxina ou agente citotóxico", também se refere a um agente quimioterápico e significa qualquer agente que seja prejudicial para as células. Exemplos incluem, mas não estão limitados a Taxol® (paclitaxel), temozolamida, citocalasina B, gramicidina D, brometo de etídio, emetina, cisplatina, mitomicina, etoposídeo, tenoposídeo, vincristina, vinbiastina, coicicina, doxorrubicina, daunorrubicina, di-hidroxi antracina diona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-desidrotosterona, glucocorticóides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol e puromicina e seus análogos ou homólogos.

[000112] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de um agente terapêutico adicional ou regime terapêutico ou procedimento selecionado a partir do grupo que consiste em cirurgia, radiação, um inibidor de ligante de morte celular

programada 1 (PD-L1) (por exemplo, um anticorpo anti-PD-L1 como descrito na Publicação de Patente US 2015/0203580 ou atezolizumab), um inibidor do gene de ativação de linfócitos 3 (LAG-3) (por exemplo, um anticorpo anti-LAG-3), um inibidor de proteína associada a linfócitos T citotóxicos 4 (CTLA-4) (por exemplo, ipilimumab), um inibidor do receptor do fator de necrose tumoral induzido por glicocorticoide (GITR) (por exemplo, um anticorpo anti-GITR), inibidor contendo mucina e imunoglobulina de células T 3 (TIM3), um inibidor do atenuador de linfócitos B e T (BTLA), um imunorreceptor de células T com inibidor de domínios Ig e ITIM (TIGIT), um inibidor de CD47, um antagonista de outro co-inibidor ou ligante de células T (por exemplo, um anticorpo para CD-28, 2B4, LY108, LAIR1, ICOS, CD160 ou VISTA), um inibidor de CD20 (por exemplo, um anticorpo anti-CD 20, ou um anticorpo CD3/CD20biespecífico), um inibidor da indolamina-2,3-dioxigenase (IDO), um antagonista do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) [por exemplo, um "VEGF-Trap" como o aflibercept ou outro inibidor de VEGF proteína de fusão conforme estabelecido em US 7.087.411, ou um anticorpo anti-VEGF ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (por exemplo, bevacizumab ou ranibizumab) ou um inibidor de quinase pequena molécula do receptor de VEGF (por exemplo, sunitinib, sorafenib ou pazopanib)], inibidor de angiopoietina 2 (Ang2) (por exemplo, nesvacumab), um inibidor do fator de crescimento transformante beta (TGF $\beta$ ), um inibidor de CD38, um inibidor do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) (por exemplo, erlotinib, cetuximab), um agonista para um receptor coestimulador (por exemplo, um agonista da proteína relacionada ao TNFR induzida por glicocorticoides), um anticorpo para um antígeno tumor-específico [por exemplo, CA9, CA125, antígeno 3 associado ao melanoma (MAGE3), antígeno carcinoembrionário (CEA), vimentina, M2-PK, antígeno prostático específico (PSA), mucina-1, MART-1 e CA19-9], uma vacina

(por exemplo, Bacillus Calmette-Guerin, uma vacina contra o câncer), ciclofosfamida, um adjuvante para aumentar a apresentação de antígenos (por exemplo, fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos), uma citotoxina, um agente quimioterápico (por exemplo, dacarbazina, temozolomida, docetaxel, doxorubicina, daunorrubicina, cisplatina, carboplatina, gemcitabina, metotrexato, mitoxantrona, oxaliplatina, paclitaxel e vincristina), um inibidor do receptor da interleucina-6 (IL-6R) (por exemplo, sarilumab), um inibidor de IL-4R (por exemplo, dupilumab), um inibidor de IL-10, uma citocina tal como IL-2, IL-7, IL-21 e IL-15, um conjugado fármaco-anticorpo (ADC) (por exemplo, ADC anti-CD19-DM4 e ADC anti-DS6-DM4), células T receptoras de antígeno quimérico (por exemplo, células T direcionadas a CD19), um fármaco anti-inflamatório (por exemplo, corticosteroides e anti-inflamatórios não esteroides) e um suplemento dietário como tal antioxidantes.

[000113] Em certas modalidades, os métodos da invenção compreendem a administração de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia e, opcionalmente, um anticorpo anti-GITR para gerar respostas antitumorais duráveis a longo prazo e/ou aumentar a sobrevida de pacientes com câncer. Em algumas modalidades, os métodos da invenção compreendem a administração de radioterapia antes, concomitantemente ou após a administração de um anticorpo anti-PD-1 e um anticorpo anti-GITR a um paciente com câncer. Por exemplo, a radioterapia pode ser administrada em uma ou mais doses a lesões tumorais após a administração de uma ou mais doses dos anticorpos. Em algumas modalidades, a radioterapia pode ser administrada localmente a uma lesão tumoral para aumentar a imunogenicidade local do tumor de um paciente (radiação adjuvante) e/ou matar células tumorais (radiação ablativa) após a administração sistêmica de um anticorpo anti-PD-1 e/ou um anticorpo anti-GITR. Em

certas modalidades, a radioterapia é administrada a uma primeira lesão tumoral, mas não a uma segunda lesão tumoral, onde a administração em combinação com o anticorpo anti-PD-1 leva à regressão do tumor na primeira e na segunda lesão tumoral (efeito abscopal). Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia e, opcionalmente, um anticorpo anti-GITR para gerar efeito abscopal prolongado.

[000114] Em certas modalidades, um anticorpo anti-PD-1 pode ser administrado em combinação com radioterapia e um agente quimioterápico (por exemplo, temozolomida ou ciclofosfamida), um antagonista de VEGF (por exemplo, aflibercept) ou fator estimulante de colônia de macrófagos e granulócitos.

#### Composições Farmacêuticas e Administração

[000115] A presente invenção inclui métodos que compreendem administrar um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radiação a um indivíduo onde o anticorpo anti-PD-1 está contido dentro de uma composição farmacêutica. As composições farmacêuticas da invenção podem ser formuladas com carreadores, excipientes e outros agentes adequados que fornecem transferência, entrega e tolerância adequadas e similares. Várias formulações apropriadas podem ser encontradas no formulário conhecido por todos os químicos farmacêuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulações incluem, por exemplo, pós, pastas, pomadas, geleias, ceras, óleos, lipídios, vesículas contendo lipídios (catiônicos ou aniônicos) (tal como LIPOFECTIN™), conjugados de DNA, pastas de absorção anidras, emulsões de óleo em água e água em óleo, emulsões de carbowax (polietilenoglicóis de vários pesos moleculares), géis semissólidos e misturas semissólidas contendo carbowax. Ver também Powell e outros "Compendium of excipientes for parenteral formulations"



PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52: 238 a 311.

[000116] Vários sistemas de administração são conhecidos e podem ser utilizados para administrar a composição farmacêutica da invenção, por exemplo, encapsulação em lipossomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capazes de expressar os vírus mutantes, endocitose mediada por receptores (ver, por exemplo, Wu e outros, 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429 a 4432). Os métodos de administração incluem, mas não estão limitados às vias intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutânea, intranasal, epidural e oral. A composição pode ser administrada por qualquer via conveniente, por exemplo por infusão ou injeção de bolus, por absorção através de revestimentos epiteliais ou mucocutâneos (por exemplo, mucosa oral, mucosa retal e intestinal, etc.) e pode ser administrada em conjunto com outros agentes biologicamente ativos.

[000117] Uma composição farmacêutica da presente invenção pode ser entregue por via subcutânea ou intravenosa com uma agulha e seringa padrão. Além disso, no que diz respeito à entrega subcutânea, um dispositivo de aplicação de caneta tem prontamente aplicações na entrega de uma composição farmacêutica da presente invenção. Tal dispositivo de entrega de caneta pode ser reutilizável ou descartável. Um dispositivo de entrega de caneta reutilizável geralmente utiliza um cartucho substituível que contém uma composição farmacêutica. Uma vez que toda a composição farmacêutica dentro do cartucho tenha sido administrada e o cartucho esteja vazio, o cartucho vazio pode ser facilmente descartado e substituído por um novo cartucho que contenha a composição farmacêutica. O dispositivo de entrega de caneta pode ser reutilizado. Em um dispositivo de entrega de caneta descartável, não há cartucho substituível. Pelo contrário, o dispositivo de entrega de caneta descartável vem pré-preenchido com a composição farmacêutica mantida em um reservatório dentro do dispositivo. Uma

vez que o reservatório seja esvaziado da composição farmacêutica, todo o dispositivo é descartado.

[000118] Em certas situações, a composição farmacêutica pode ser entregue em um sistema de liberação controlada. Em uma modalidade, uma bomba pode ser usada. Em outra modalidade, materiais poliméricos podem ser usados; ver, *Medical Applications of Controlled Release*, Langer e Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Camundongon, Flórida. Ainda em outra modalidade, um sistema de liberação controlada pode ser colocado na proximidade do alvo da composição, exigindo assim apenas uma fração da dose sistêmica (ver, por exemplo, Goodson, 1984, em *Medical Applications of Controlled Release*, supra, vol. 2, págs. 115 a 138). Outros sistemas de liberação controlada são discutidos na revisão por Langer, 1990, *Science* 249: 1527 a 1533.

[000119] As preparações injetáveis podem incluir formas de dosagem para injeções intravenosas, subcutâneas, intramusculares e intramusculares, infusões por gotejamento, etc. Estas preparações injetáveis podem ser preparadas por métodos conhecidos. Por exemplo, as preparações injetáveis podem ser preparadas, por exemplo, dissolvendo, suspendendo ou emulsionando o anticorpo ou o seu sal descrito acima em um meio aquoso estéril ou em um meio oleoso convencionalmente utilizado para injeções. Como o meio aquoso para injeções, existem, por exemplo, soro fisiológico, uma solução isotônica contendo glicose e outros agentes auxiliares, etc., que podem ser utilizados em combinação com um agente de solubilização apropriado tal como um álcool (por exemplo, etanol), um poliálcool (por exemplo, propileno glicol, polietileno glicol), um tensoativo não iônico [por exemplo, polissorbato 80, HCO-50 (polioxietileno (50 mol) aducto de óleo de rícino hidrogenado)], etc. Como o meio oleoso, são empregados, por exemplo, óleo de gergelim, óleo de soja, etc., que podem ser utilizados em combinação com um agente solubilizante, tal

como benzil benzoato, álcool benzílico, etc. A injeção assim preparada é preferencialmente preenchida em uma ampola apropriada.

[000120] Vantajosamente, as composições farmacêuticas para uso oral ou parenteral descritas acima são preparadas em formas de dosagem em uma dose unitária adequada para ajustar uma dose dos ingredientes ativos. Essas formas de dosagem em uma dose unitária incluem, por exemplo, comprimidos, pílulas, cápsulas, injeções (ampolas), supositórios, etc.

[000121] Em certas modalidades, a presente invenção fornece uma formulação farmacêutica compreendendo uma quantidade terapêutica de um anticorpo anti-PD-1 e um carreador farmacêutico. Em certas modalidades, a presente invenção fornece um anticorpo anti-PD-1 formulado em uma composição farmacêutica para utilização em administração intravenosa.

#### Regimes de Administração

[000122] A presente invenção inclui métodos compreendendo administrar a um indivíduo um anticorpo anti-PD-1 em uma frequência de dosagem de aproximadamente quatro vezes por semana, duas vezes por semana, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas, uma vez a cada quatro semanas, uma vez a cada cinco semanas, uma vez a cada seis semanas, uma vez a cada oito semanas, uma vez a cada doze semanas, ou com menos frequência, desde que seja obtida uma resposta terapêutica. Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos compreendendo administrar a um indivíduo radioterapia a uma frequência de dosagem de aproximadamente sete vezes por semana, aproximadamente quatro vezes por semana, duas vezes por semana, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas, uma vez a cada quatro semanas, uma vez a cada cinco semanas, uma vez a cada seis semanas, uma vez a cada oito

semanas, uma vez a cada doze semanas ou com menor frequência, desde que seja obtida uma resposta terapêutica. Em certas modalidades, os métodos envolvem a administração de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia em uma frequência de dosagem de aproximadamente sete vezes por semana, aproximadamente quatro vezes por semana, duas vezes por semana, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas, uma vez a cada quatro semanas, uma vez a cada cinco semanas, uma vez a cada seis semanas, uma vez a cada oito semanas, uma vez a cada nove semanas, uma vez a cada doze semanas ou menos frequentemente, desde que seja alcançada uma resposta terapêutica.

[000123] Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de radioterapia onde a radioterapia é a radioterapia hipofracionada. Em certas modalidades, a radioterapia hipofracionada compreende 2 a 12 frações. Em certas modalidades, as 2 a 12 frações são administradas em dias consecutivos. Em certas modalidades, a radioterapia é administrada após a administração de uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1. Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado 0,5 a 2 semanas antes da administração de uma ou mais frações de radioterapia.

[000124] De acordo com certas modalidades da presente invenção, múltiplas doses de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com a radioterapia podem ser administradas a um indivíduo ao longo de um período de tempo definido. Os métodos de acordo com este aspecto da invenção compreendem administrar sequencialmente a um indivíduo uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com uma ou mais doses de radiação. Como aqui utilizado, "administrar sequencialmente" significa que cada dose do anticorpo é administrada ao indivíduo em um ponto no tempo diferente, por exemplo, em dias

diferentes separados por um intervalo predeterminado (por exemplo, horas, dias, semanas ou meses). Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração sequencial de uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 0,5 a 12 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades adicionais, os métodos compreendem ainda a administração de radioterapia. A radioterapia pode ser radioterapia hipofracionada. Em certas modalidades, a radioterapia compreende 2 a 12 frações. Em algumas modalidades, as frações de radiação são administradas em dias consecutivos ou dias alternados. Em certas modalidades, as frações de radiação são administradas uma vez em 3 dias, uma vez em 4 dias, uma vez em 5 dias, uma vez em 6 dias, uma vez em 7 dias, ou uma combinação dos mesmos.

[000125] Em certas modalidades, a presente invenção inclui métodos que compreendem sequencialmente administrar ao paciente uma dose inicial única de um anticorpo anti-PD-1, seguida por uma ou mais doses secundárias do anticorpo anti-PD-1, e opcionalmente seguida por uma ou mais doses terciárias do anticorpo anti-PD-1. Em certas modalidades, os métodos compreendem ainda administrar sequencialmente ao paciente uma dose inicial única de radioterapia, seguida por uma ou mais doses secundárias de radioterapia, e opcionalmente seguidas por uma ou mais doses terciárias de radioterapia. Em modalidades alternativas, os métodos compreendem ainda a administração sequencial de uma ou mais frações de radioterapia hipofracionada.

[000126] De acordo com certas modalidades da presente invenção, múltiplas doses de um anticorpo anti-PD-1 e radioterapia podem ser administradas a um indivíduo ao longo de um período de tempo definido. Os métodos de acordo com este aspecto da invenção compreendem administrar sequencialmente a um indivíduo múltiplas doses de um

anticorpo anti-PD-1 e radiação. Como aqui utilizado, "administrar sequencialmente" significa que cada dose do anticorpo anti-PD-1 em combinação com a radioterapia é administrada ao indivíduo em um ponto no tempo diferente, por exemplo, em dias diferentes separados por um intervalo predeterminado (por exemplo, horas, dias, semanas ou meses).

[000127] Os termos "dose inicial", "doses secundárias" e "doses terciárias" referem-se à sequência temporal de administração. Assim, a "dose inicial" é a dose que é administrada no início do regime de tratamento (também chamada de a "dose inicial"); as "doses secundárias" são as doses administradas após a dose inicial; e as "doses terciárias" são as doses administradas após as doses secundárias. As doses inicial, secundária e terciária podem todas conter a mesma quantidade do anticorpo (anticorpo anti-PD-1). Em certas modalidades, no entanto, a quantidade contida nas doses inicial, secundária e/ou terciária varia de uma para a outra (por exemplo, ajustada para cima ou para baixo conforme apropriado) durante o decorrer do tratamento. Em certas modalidades, uma ou mais doses (por exemplo, 1, 2, 3, 4 ou 5) são administradas no início do regime de tratamento como "doses de carga" seguidas por doses subsequentes que são administradas em uma base menos frequente (por exemplo, "doses de manutenção"). Por exemplo, um anticorpo anti-PD-1 pode ser administrado a um paciente com câncer a uma dose de carga de aproximadamente 1 a 3 mg/kg, seguida por uma ou mais doses de manutenção de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg/kg do peso corporal do paciente.

[000128] Em uma modalidade exemplificativa da presente invenção, cada dose secundária e/ou terciária é administrada de  $\frac{1}{2}$  a 14 (por exemplo,  $\frac{1}{2}$ , 1,  $1\frac{1}{2}$ , 2,  $2\frac{1}{2}$ , 3,  $3\frac{1}{2}$ , 4,  $4\frac{1}{2}$ , 5,  $5\frac{1}{2}$ , 6,  $6\frac{1}{2}$ , 7,  $7\frac{1}{2}$ , 8,  $8\frac{1}{2}$ , 9,  $9\frac{1}{2}$ , 10,  $10\frac{1}{2}$ , 11,  $11\frac{1}{2}$ , 12,  $12\frac{1}{2}$ , 13,  $13\frac{1}{2}$ , 14,  $14\frac{1}{2}$ , ou mais) semanas

após a dose imediatamente anterior. A frase "a dose imediatamente anterior", como aqui utilizada, significa, em uma sequência de múltiplas administrações, a dose de anticorpo anti-PD-1 (e/ou radiação) que é administrada a um paciente antes da administração da próxima dose na sequência sem doses intervenientes.

[000129] Os métodos de acordo com este aspecto da invenção podem compreender administrar a um paciente qualquer número de doses secundárias e/ou terciárias de um anticorpo anti-PD-1 (e/ou radioterapia). Por exemplo, em certas modalidades, apenas uma única dose secundária é administrada ao paciente. Em outras modalidades, duas ou mais doses secundárias (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou mais) são administradas ao paciente. Do mesmo modo, em certas modalidades, apenas uma única dose terciária é administrada ao paciente. Em outras modalidades, duas ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou mais) doses terciárias são administradas ao paciente.

[000130] Em modalidades que envolvem múltiplas doses secundárias, cada dose secundária pode ser administrada na mesma frequência que as outras doses secundárias. Por exemplo, cada dose secundária pode ser administrada ao paciente 1 a 2 semanas após a dose imediatamente anterior. Analogamente, em modalidades envolvendo múltiplas doses terciárias, cada dose terciária pode ser administrada na mesma frequência que as outras doses terciárias. Por exemplo, cada dose terciária pode ser administrada ao paciente 2 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior. Alternativamente, a frequência com que as doses secundárias e/ou terciárias são administradas a um paciente pode variar ao longo do decorrer do regime de tratamento. A frequência de administração também pode ser ajustada durante o decorrer do tratamento por um médico, dependendo das necessidades do paciente individual após o exame clínico.

[000131] Em certas modalidades, uma ou mais doses de um anticorpo

anti-PD-1 e/ou radiação são administradas no início de um regime de tratamento como "doses de indução" em uma base mais frequente (duas vezes por semana, uma vez por semana ou uma vez em 2 semanas) seguidas por doses subsequentes ("doses de consolidação" ou "doses de manutenção") que são administradas com menos frequência (por exemplo, uma vez em 2 a 12 semanas). Em certas modalidades, uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 e/ou radiação são administradas no início de um regime de tratamento como "doses de indução" em uma base mais frequente (duas vezes por semana, uma vez por semana ou uma vez em 2 semanas) seguidas de doses subsequentes do anticorpo anti-PD-1.

[000132] A presente invenção inclui métodos que compreendem administrar sequencialmente uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com uma ou mais doses de radioterapia onde uma ou mais doses estão compreendidas em um ou mais ciclos de tratamento.

[000133] De acordo com certas modalidades da presente invenção, os métodos compreendem a administração de ao menos um ciclo de tratamento onde ao menos um ciclo de tratamento compreende a administração de uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1, e opcionalmente uma ou mais doses de radioterapia. Em certas modalidades, um ciclo de tratamento compreende 1 a 10 doses do anticorpo anti-PD-1, onde cada dose do anticorpo anti-PD-1 é administrada 0,5 a 8 semanas após a dose imediatamente anterior. Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de até 6 ou 8 ciclos de tratamento. Em certas outras modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de até 12 ciclos de tratamento, ou mais, conforme necessário para o efeito terapêutico. Em certas modalidades, ao menos um ciclo de tratamento compreende ainda radioterapia. Em algumas



modalidades, a radioterapia é a radioterapia hipofracionada, onde a radioterapia hipofracionada compreende 2 a 12 frações. Em certas modalidades, as 2 a 12 frações são administradas em dias consecutivos.

[000134] A presente invenção inclui métodos compreendendo a administração sequencial de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia, a um paciente para tratar um câncer (por exemplo, um tumor sólido). Em algumas modalidades, os presentes métodos compreendem a administração de uma ou mais doses de um anticorpo anti-PD-1 seguidas por radioterapia. Em certas modalidades adicionais, a radioterapia é administrada em frações (radiação hipofracionada). Em certas modalidades, os presentes métodos compreendem a administração de uma dose única de um anticorpo anti-PD-1 seguida por 2 a 10 frações de radioterapia, seguidas por uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1. Em algumas modalidades, uma ou mais doses de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg de um anticorpo anti-PD-1 podem ser administradas seguidas de radioterapia para inibir o crescimento de tumores e/ou prevenir a recidiva de tumores em um indivíduo com um câncer (por exemplo, um tumor sólido). Em algumas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrado em uma ou mais doses seguidas por radioterapia resultando em aumento da eficácia antitumoral (por exemplo, maior inibição do crescimento do tumor, aumento da prevenção da recidiva do tumor em comparação com um indivíduo não tratado ou um indivíduo administrado com anticorpo ou radiação como monoterapia). Modalidades alternativas da invenção referem-se à administração em simultâneo do anticorpo anti-PD-1 e radiação que é administrada em uma frequência similar ou diferente em relação ao anticorpo anti-PD-1. Em algumas modalidades, a radioterapia é administrada antes, após ou em simultâneo com o anticorpo anti-PD-1.

### Dosagem

[000135] A quantidade de anticorpo anti-PD-1 administrada a um indivíduo de acordo com os métodos da presente invenção é, geralmente, uma quantidade terapeuticamente eficaz. Como aqui utilizado, a frase "quantidade terapeuticamente eficaz" significa uma quantidade de anticorpo (anticorpo anti-PD-1 que resulta em um ou mais de: (a) uma redução na gravidade ou duração de um sintoma ou uma indicação de um câncer por exemplo, um tumor sólido, (b) inibição do crescimento do tumor ou aumento da necrose tumoral, encolhimento e/ou desaparecimento do tumor, (c) retardo no crescimento e desenvolvimento do tumor, (d) inibição da metástase tumoral; (e) prevenção da recorrência do crescimento do tumor, (f) aumento na sobrevivência de um indivíduo com um câncer e/ou (g) uma redução na utilização ou necessidade de terapia anticâncer convencional (por exemplo, utilização reduzida ou eliminada de quimioterápicos ou agentes citotóxicos) em comparação com um indivíduo não tratado ou um indivíduo administrado com o anticorpo como monoterapia.

[000136] No caso de um anticorpo anti-PD-1, uma quantidade terapeuticamente eficaz pode ser de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 600 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 450 mg, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 350 mg, ou de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg do anticorpo. Por exemplo, em várias modalidades, a quantidade do anticorpo anti-PD-1 é de aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 1,0 mg, aproximadamente 1,5 mg, aproximadamente 2,0 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente

50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg, aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg, ou aproximadamente 600 mg, do anticorpo anti-PD-1. Em uma modalidade, 250 mg de um anticorpo anti-PD-1 são administrados de acordo com os métodos da presente invenção. Em uma modalidade, 200 mg de um anticorpo anti-PD-1 são administrados de acordo com os

métodos da presente invenção. Em uma modalidade, 350 mg de um anticorpo anti-PD-1 são administrados de acordo com os métodos da presente invenção.

[000137] A quantidade de anticorpo anti-PD-1 contido nas doses individuais pode ser expressa em termos de miligramas de anticorpo por quilograma de peso corporal (isto é, mg/kg). Em certas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 utilizado nos métodos da presente invenção pode ser administrado a um indivíduo a uma dose de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal do indivíduo. Em certas modalidades, um anticorpo anti-PD-1 pode ser administrado na dose de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal de um paciente. Em certas modalidades, os métodos da presente invenção compreendem a administração de um anticorpo anti-PD-1 a uma dose de aproximadamente 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg ou 10 mg/kg de peso corporal de um paciente.

[000138] Em certas modalidades, a quantidade de anticorpo anti-PD-1 administrada a um paciente pode ser inferior a uma quantidade terapeuticamente eficaz, ou seja, uma dose subterapêutica. Por exemplo, se a quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-PD-1 compreende 3 mg/kg, uma dose subterapêutica compreende uma quantidade inferior a 3 mg/kg, por exemplo, 2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1 mg/kg, 0,5 mg/kg ou 0,3 mg/kg. Tal como aqui definido, uma "dose subterapêutica" se refere a uma quantidade do anticorpo anti-PD-1 que não conduz a um efeito terapêutico por si só. No entanto, em certas modalidades, uma dose subterapêutica de um anticorpo anti-PD-1 é administrada com um segundo e, opcionalmente, um terceiro agente terapêutico para promover um efeito terapêutico.

[000139] Em certas modalidades, a radioterapia administrada a um indivíduo em sua necessidade de tratamento compreende 2 a 100 Gray (Gy). Em certas modalidades, a radioterapia compreende 5, 7, 8, 9, 10,

11, 12, 15, 20, 23, 25, 27, 30, 35, 40 ou 45 Gy. Em certas outras modalidades, a radioterapia compreende 50 a 100, 60 a 90 ou 70 a 80 Gy. Em certas modalidades, a radioterapia é administrada em 2 a 12 frações (radioterapia hipofracionada), onde cada fração compreende 2 a 10 Gy. Por exemplo, 30 Gy de radiação são administrados em 5 frações, cada fração compreendendo 6 Gy.

#### Modalidades Seleccionadas

[000140] As modalidades seleccionadas da presente invenção incluem as seguintes:

[000141] em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento ou inibição do crescimento de um tumor em um indivíduo compreendendo:

[000142] (a) seleccionar um indivíduo com câncer; e

[000143] (b) administrar ao indivíduo em necessidade de tratamento uma ou mais doses de radioterapia em combinação com uma ou mais doses de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a morte celular programada 1 (PD-1), onde a administração da combinação resulta em eficácia terapêutica melhorada em comparação com a administração do anticorpo ou radiação somente.

[000144] Em uma modalidade, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende entre 0,1 a 20 mg/kg de peso corporal do indivíduo.

[000145] Em outra modalidade, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 0,3, 1, 3, 5 ou 10 mg/kg do peso corporal do indivíduo.

[000146] Em outras modalidades, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 20 a 400 mg.

[000147] Em algumas modalidades, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 200 mg.

[000148] Em uma modalidade, cada dose de radiação compreende 2

a 80 Gray (Gy).

[000149] Em outra modalidade, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 1, 3 ou 10 mg/kg do peso corporal do indivíduo e cada dose de radioterapia compreende 20 a 50 Gy.

[000150] Em outras modalidades, a radioterapia é a radioterapia fracionada.

[000151] Em algumas modalidades, a radioterapia fracionada compreende 2 a 10 frações.

[000152] Em uma modalidade, a radioterapia fracionada compreende 30 Gy em 5 frações.

[000153] Em outra modalidade, a radioterapia fracionada compreende 27 Gy em 3 frações.

[000154] Em outras modalidades, 4 a 50 doses do anticorpo anti-PD-1 são administradas, e onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[000155] Em algumas modalidades, cada dose do anticorpo anti-PD-1 é administrada 2 semanas após a dose imediatamente anterior.

[000156] Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é administrado antes, em simultâneo com ou após a radioterapia.

[000157] Em outra modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é administrado antes da radioterapia.

[000158] Em outras modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é administrada 1 semana antes da radioterapia.

[000159] Em algumas modalidades, a eficácia terapêutica melhorada compreende um efeito selecionado a partir do grupo que consiste em regressão do tumor, efeito abscopal, inibição de metástase tumoral, redução de lesões metastáticas ao longo do tempo, uso reduzido de agentes quimioterápicos ou citotóxicos, redução da carga tumoral, aumento na sobrevida livre de progressão, aumento na sobrevida geral, resposta completa, resposta parcial e doença estável.

[000160] Em uma modalidade, a eficácia terapêutica melhorada compreende regressão do tumor em um tumor distal a um tumor irradiado.

[000161] Em outra modalidade, o crescimento do tumor é inibido em ao menos 50% em comparação com um indivíduo administrado com anticorpo ou radiação isoladamente.

[000162] Em outras modalidades, o crescimento do tumor é inibido em ao menos 50% em comparação com um indivíduo que recebeu uma dose de radiação antes de um anticorpo anti-PD-1.

[000163] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento de um tumor compreendendo: (a) selecionar um indivíduo com um câncer; e (b) administrar ao indivíduo ao menos um ciclo de tratamento onde ao menos um ciclo de tratamento compreende 1 a 6 doses de um anticorpo anti-PD-1 e onde cada dose é administrada 2 semanas após a dose imediatamente anterior.

[000164] Em uma modalidade, cada dose do anticorpo anti-PD-1 compreende 1, 3, 5 ou 10 mg/kg do peso corporal do indivíduo.

[000165] Em outra modalidade, ao menos um ciclo de tratamento compreende ainda radioterapia.

[000166] Em outras modalidades, a radioterapia compreende aproximadamente 20 a 50 Gy.

[000167] Em algumas modalidades, a radioterapia compreende aproximadamente 27 Gy.

[000168] Em uma modalidade, a radioterapia compreende aproximadamente 30 Gy.

[000169] Em outra modalidade, a radioterapia é a radioterapia fracionada.

[000170] Em outras modalidades, a radioterapia fracionada compreende de 2 a 6 frações.

[000171] Em algumas modalidades, a radioterapia fracionada

compreende 3 frações.

[000172] Em uma modalidade, a radioterapia fracionada compreende 5 frações.

[000173] Em outra modalidade, a radioterapia compreende aproximadamente 27 Gy em 3 frações.

[000174] Em outras modalidades, a radioterapia compreende aproximadamente 30 Gy em 5 frações.

[000175] Em algumas modalidades, as frações são administradas em dias sequenciais.

[000176] Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é administrado 1 semana antes da radioterapia.

[000177] Em outra modalidade, até 10 ciclos de tratamento são administrados ao indivíduo com necessidade de tratamento.

[000178] Em outras modalidades, 6 ciclos de tratamento são administrados ao indivíduo em necessidade de tratamento.

[000179] Em algumas modalidades, a radioterapia é administrada no primeiro ciclo de tratamento.

[000180] Em uma modalidade, a radioterapia compreende aproximadamente 20 a 50 Gy.

[000181] Em outra modalidade, a radioterapia compreende radioterapia hipofracionada.

[000182] Em outras modalidades, a radioterapia fracionada compreende 2 a 6 frações.

[000183] Em algumas modalidades, a radioterapia compreende aproximadamente 27 Gy em 3 frações.

[000184] Em uma modalidade, a radioterapia compreende aproximadamente 30 Gy em 5 frações.

[000185] Em outra modalidade, as frações são administradas em dias sequenciais.

[000186] Em outras modalidades, o anticorpo anti-PD-1 é



administrado 1 semana antes da radioterapia.

[000187] Em algumas modalidades, cada ciclo de tratamento compreende 4 doses do anticorpo anti-PD-1.

[000188] Em uma modalidade, o tratamento produz um efeito terapêutico selecionado a partir do grupo que consiste da inibição do crescimento do tumor, regressão do tumor, redução no tamanho de um tumor, redução no número de células tumorais, retardo no crescimento do tumor, efeito abscopal, inibição de metástase tumoral, redução de lesões metastáticas ao longo do tempo, redução do uso de agentes quimioterápicos ou citotóxicos, redução da carga tumoral, aumento da sobrevida livre de progressão, aumento da sobrevida geral, resposta completa, resposta parcial e doença estável.

[000189] Em outra modalidade, o efeito do tratamento compreende a regressão tumoral em um tumor distal a um tumor irradiado no indivíduo.

[000190] Em outras modalidades, o crescimento do tumor é retardado em ao menos 10 dias em comparação com um indivíduo não tratado.

[000191] Em algumas modalidades, o crescimento do tumor é inibido em ao menos 50% em comparação com um indivíduo não tratado.

[000192] Em uma modalidade, o crescimento do tumor é inibido em ao menos 50% em comparação com um indivíduo administrado com anticorpo ou radiação isoladamente.

[000193] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento de um tumor compreendendo: (a) selecionar um indivíduo com uma primeira lesão tumoral sólida e uma segunda lesão tumoral sólida, onde a segunda lesão tumoral sólida está localizada distalmente a partir da primeira lesão tumoral sólida; e (b) administrar um anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo em combinação com radioterapia.

[000194] Em outras modalidades, a radioterapia é administrada à primeira lesão tumoral, mas não à segunda lesão tumoral e onde a

administração conduz à regressão do tumor na primeira e na segunda lesão tumoral.

[000195] Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é administrado antes da radioterapia.

[000196] Em outra modalidade, o indivíduo é resistente ou inadequadamente responsivo à terapia prévia, ou recidivante após terapia prévia.

[000197] Em outras modalidades, o câncer é câncer recorrente ou metastático.

[000198] Em algumas modalidades, o método compreende ainda administrar ao indivíduo um agente terapêutico adicional ou terapia, onde o agente terapêutico adicional ou terapia é selecionado a partir do grupo que consiste em cirurgia, um agente quimioterápico, uma vacina contra o câncer, um ligante de morte celular programada 1 (PD-L1), um inibidor do gene de ativação linfocitária 3 (LAG3), um inibidor da proteína associada aos linfócitos T citotóxicos 4 (CTLA-4), um inibidor do receptor do fator de necrose tumoral (GITR) induzido por glicocorticoides, um inibidor do domínio da mucina e imunoglobulina celular 3 (TIM3), um inibidor do atenuador de linfócitos B e T (BTLA), um imunorreceptor de células T com um inibidor dos domínios Ig e ITIM (TIGIT), um inibidor CD47, um Inibidor da indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO), um anticorpo anti-CD3/anti-CD20 biespecífico, um antagonista do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), um inibidor da angiopoietina-2 (Ang2), um inibidor do fator de crescimento transformante beta (TGF $\beta$ ), uma inibidor do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), ciclofosfamida, um anticorpo contra um antígeno tumor-específico, vacina para Bacillus Calmette-Guerin, uma citotoxina, um inibidor do receptor de interleucina 6 (IL-6R), um inibidor do receptor de interleucina 4 (IL-4R), um inibidor de IL-10,

IL-2, IL-7, IL-21, IL-15, um conjugado anticorpo-fármaco, um fármaco anti-inflamatório e um suplemento dietário.

[000199] Em uma modalidade, o agente terapêutico adicional é um anticorpo anti-GITR.

[000200] Em outra modalidade, o agente terapêutico adicional é a ciclofosfamida.

[000201] Em outras modalidades, o agente terapêutico adicional é o GM-CSF.

[000202] Em algumas modalidades, o agente terapêutico adicional é selecionado a partir do grupo que consiste em docetaxel, carboplatina, paclitaxel, cisplatina, gemcitabina e pemetrexed.

[000203] Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é administrado por via intravenosa, por via subcutânea, ou intraperitoneal.

[000204] Em outra modalidade, o câncer compreende um tumor sólido.

[000205] Em outras modalidades, o tumor sólido é selecionado a partir do grupo que consiste em câncer colorretal, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer do endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, ou mieloma.

[000206] Em algumas modalidades, o tumor sólido é selecionado a partir do grupo que consiste em carcinoma hepatocelular, câncer de pulmão de não pequenas células, câncer de células escamosas de cabeça e pescoço, carcinoma de células basais, carcinoma de mama, carcinoma de células escamosas cutâneas, condrossarcoma, angiossarcoma, colangiocarcinoma, sarcoma de partes moles, câncer colorretal, melanoma, carcinoma de células de Merkel e glioblastoma

multiforme.

[000207] Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende as regiões determinantes de complementaridade de cadeia pesada (HCDR1, HCDR2 e HCDR3) de uma região variável de cadeia pesada (HCVR) compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ. ID NO: 1 e três regiões determinantes de complementaridade de cadeia leve (LCDR1, LCDR2 e LCDR3) de uma região variável de cadeia leve (LCVR) compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

[000208] Em outra modalidade, o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende três HCDRs (HCDR1, HCDR2 e HCDR3) e três LCDRs (LCDR1, LCDR2 e LCDR3), onde a HCDR1 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ. ID NO: 3; a HCDR2 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 4; a HCDR3 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 5; a LCDR1 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 6; a LCDR2 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 7; e a LCDR3 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 8.

[000209] Em outras modalidades, a HCVR compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1 e a LCVR compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 2.

[000210] Em outra modalidade, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 9 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10.

[000211] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método para inibir a ativação e/ou proliferação de células T reguladoras (Treg) compreendendo: (a) selecionar um indivíduo com um tumor sólido; e (b) administrar ao indivíduo (i) um anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, (ii) radioterapia e (iii) ao

menos um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente ao receptor do fator de necrose tumoral induzido por glicocorticoides (GITR), ciclofosfamida, GM-CSF, um anticorpo anti-LAG3, docetaxel ou carboplatina.

[000212] Em uma modalidade, o indivíduo tem um grande tumor.

[000213] Em outra modalidade, a dose de radiação é 2 a 50 Gy.

[000214] Em outras modalidades, a administração conduz a ao menos um efeito selecionado a partir do grupo que consiste da inibição do crescimento do tumor, regressão do tumor, redução no tamanho de um tumor, redução no número de células tumorais, retardo no crescimento do tumor, efeito abscopal, inibição de metástase tumoral, redução de lesões metastáticas ao longo do tempo, redução do uso de agentes quimioterápicos ou citotóxicos, redução da carga tumoral, aumento da sobrevida livre de progressão, aumento da sobrevida geral, resposta completa, resposta parcial e doença estável.

[000215] Em algumas modalidades, o tumor sólido é selecionado a partir do grupo que consiste em câncer colorretal, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de cérebro, câncer cervical, câncer de bexiga, câncer anal, câncer uterino, câncer de cólon, câncer de fígado, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer do endométrio, câncer de osso, câncer de testículo, câncer de pele, câncer de rim, câncer de estômago, câncer de esôfago, câncer de cabeça e pescoço, câncer de glândula salivar, ou mieloma.

[000216] Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende as regiões determinantes de complementaridade de cadeia pesada (HCDR1, HCDR2 e HCDR3) de uma região variável de cadeia pesada (HCVR) compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ. ID NO: 1 e três regiões determinantes de complementaridade de cadeia leve (LCDR1, LCDR2 e LCDR3) de uma região variável de cadeia leve (LCVR)

compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 2.

[000217] Em outra modalidade, o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende três HCDRs (HCDR1, HCDR2 e HCDR3) e três LCDRs (LCDR1, LCDR2 e LCDR3), onde a HCDR1 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ. ID NO: 3; a HCDR2 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 4; a HCDR3 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 5; a LCDR1 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 6; a LCDR2 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 7; e a LCDR3 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 8.

[000218] Em outras modalidades, a HCVR compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1 e a LCVR compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 2.

[000219] Em uma modalidade, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 9 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10.

[000220] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento ou inibição do crescimento de um tumor compreendendo:

[000221] (a) selecionar um indivíduo com um câncer de pele; e

[000222] (b) administrar ao indivíduo em necessidade de tratamento uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1.

[000223] Em uma modalidade, o dito anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1 é administrado como uma monoterapia.

[000224] Em outra modalidade, o câncer de pele é um câncer de pele associado a UV.

[000225] Em outras modalidades, o dito câncer de pele é selecionado

a partir do grupo que consiste em carcinoma de células escamosas cutâneas (CSCC), carcinoma basocelular (BCC), carcinoma de células de Merkel e melanoma.

[000226] Em algumas modalidades, com a condição de que o dito câncer de pele não é um carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço.

[000227] Em uma modalidade, o dito câncer de pele é um câncer metastático, não resseccionável e/ou avançado localmente.

[000228] Em outra modalidade, o dito câncer de pele é BCC e onde o dito paciente é intolerante ou progride após tratamento com um inibidor da via de sinalização Hedgehog.

[000229] Em outras modalidades, o dito anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é administrado como uma ou mais doses, onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[000230] Em algumas modalidades, cada dose é administrada 2 semanas após a dose imediatamente anterior.

[000231] Em uma modalidade, cada dose compreende 1, 3 ou 10 mg/kg de peso corporal do indivíduo.

[000232] Em outra modalidade, o dito anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1 é um anticorpo como definido em qualquer uma das modalidades anteriores.

[000233] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento ou inibição do crescimento de um tumor em um indivíduo, o método compreendendo: selecionar um indivíduo com um câncer no cérebro; e administrar ao indivíduo em necessidade de tratamento uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1.

[000234] Em uma modalidade, o indivíduo tem glioblastoma

multiforme (GBM).

[000235] Em outra modalidade, o indivíduo tem GBM recém-diagnosticado.

[000236] Em outras modalidades, o indivíduo é  $\geq 65$  anos de idade.

[000237] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é administrado como uma ou mais doses, onde cada dose é administrada 0,5 a 4 semanas após a dose imediatamente anterior.

[000238] Em uma modalidade, cada dose é administrada 2 semanas após a dose imediatamente anterior.

[000239] Em outra modalidade, cada dose compreende 1, 3 ou 10 mg/kg de peso corporal do indivíduo.

[000240] Em outras modalidades, o método compreende ainda a administração de radioterapia ao indivíduo em necessidade de tratamento.

[000241] Em algumas modalidades, a radioterapia é a radioterapia hipofracionada.

[000242] Em uma modalidade, o indivíduo é administrado com 20 a 50 Gy de radiação em 2 a 20 frações.

[000243] Em outra modalidade, ao indivíduo é administrada radioterapia 1 semana após a primeira dose do anticorpo anti-PD-1.

[000244] Em outras modalidades, uma ou mais doses do anticorpo anti-PD-1 estão compreendidas em um ou mais ciclos de tratamento, em que cada ciclo compreende 1 a 6 doses do anticorpo anti-PD-1.

[000245] Em algumas modalidades, cada ciclo de tratamento compreende 4 doses do anticorpo anti-PD-1, onde cada dose é administrada 2 semanas após a dose imediatamente anterior.

[000246] Em uma modalidade, cada dose compreende 1, 3 ou 10 mg/kg de peso corporal do indivíduo.

[000247] Em outra modalidade, o primeiro ciclo de tratamento



compreende ainda radioterapia.

[000248] Em outras modalidades, a radioterapia é a radioterapia hipofracionada.

[000249] Em algumas modalidades, o indivíduo é administrado 20 a 50 Gy de radiação em 2 a 20 frações.

[000250] Em uma modalidade, o indivíduo é administrado 30 Gy em 5 frações diárias.

[000251] Em outra modalidade, a radioterapia é administrada uma semana após a administração do anticorpo anti-PD-1.

[000252] Em outras modalidades, o método compreende ainda administrar um agente anti-angiogênico ao indivíduo se o indivíduo desenvolver edema intracraniano após administração do anticorpo anti-PD-1.

[000253] Em algumas modalidades, o agente anti-angiogênico é selecionado a partir do grupo que consiste em um inibidor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e um inibidor de angiopoietina-2 (Ang-2).

[000254] Em uma modalidade, o agente anti-angiogênico é bevacizumab ou aflibercept.

[000255] Em outras modalidades, o dito anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1 é um anticorpo como definido em qualquer uma das modalidades anteriores.

### EXEMPLOS

[000256] Os exemplos a seguir são apresentados de modo a fornecer aos versados na técnica uma completa descrição e descrição de como fazer e usar os métodos e composições da invenção, e não se destinam a limitar o escopo que os inventores consideram como sua invenção. Esforços têm sido feitos para garantir a precisão em relação aos números usados (por exemplo, quantidades, temperatura, etc.), mas alguns erros experimentais e desvios devem ser contabilizados. A

menos que indicado de outro modo, as partes são partes em peso, o peso molecular é o peso molecular médio, a temperatura é em graus centígrados e a pressão é a pressão atmosférica ou próxima a ela.

Exemplo 1: Eficácia *in vivo* do anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia contra tumores MC38

[000257] Neste exemplo, o efeito do bloqueio PD-1 em combinação com a radioterapia foi examinado contra tumores MC38 estabelecidos em camundongos.

[000258]  $5 \times 10^5$  células de carcinoma do cólon MC38 foram implantadas subcutaneamente nos flancos direitos de camundongos C57BL/6 fêmeas (Jackson Laboratory). O tratamento foi iniciado no dia 9 após a implantação quando os volumes médios do tumor atingiram aproximadamente  $100 \text{ mm}^3$ . Os camundongos foram distribuídos randomicamente para receber ou controle de isotipo (2A3, BioXcell) ou anticorpo bloqueador de PD-1 (RMP1-14, BioXCell) a  $5 \text{ mg/kg}$ , 2x por semana, para um total de 5 injeções intraperitoneais. Um dia após o início do tratamento com anticorpo, os camundongos designados para os grupos de radioterapia receberam  $12 \text{ Gy}$  de irradiação nos tumores do flanco direito. A radioterapia foi realizada utilizando o irradiador de pesquisa biológica RS 2000 (Rad Source) para camundongos anestesiados (cetamina/xilazina) protegidos com aparelhos de irradiação parcial do corpo (raio X de precisão) e folhas de chumbo (Images Scientific Instruments). O crescimento do tumor foi avaliado 3x por semana até aos dias 70-80 quando todos os camundongos foram eutanasiados. A Figura 1 mostra o modelo de estudo do experimento que inclui a dosagem do anticorpo anti-PD-1 e a radiação.

[000259] A Figura 2 e a Tabela 1 mostram os volumes médios de tumor em camundongos administrados apenas com o anticorpo anti-PD-1 ou em combinação com radiação.

**Tabela 1:** Volumes médios de tumor em camundongos administrados com anticorpo anti-PD-1 isoladamente ou em combinação com radiação.

Dias após a implantação	Volume médio de tumor (mm <sup>3</sup> ± SEM)			
	Controle de isotipo	Anticorpo Anti-PD-1	Controle de isotipo + radiação	Anticorpo anti-PD-1 + radiação
4	15,39 ± 3,70	8,62 ± 3,02	13,28 ± 3,44	10,78 ± 3,01
7	41,11 ± 8,81	38,90 ± 7,09	49,86 ± 11,38	39,36 ± 6,32
8	68,64 ± 10,01	72,03 ± 12,13	74,03 ± 14,83	73,70 ± 14,86
10	85,82 ± 4,10	94,98 ± 22,68	100,88 ± 11,46	122,05 ± 15,05
14	725,87 ± 68,45	834,37 ± 206,70	320,10 ± 58,80	300,67 ± 60,74
16	1023,61 ± 191,41	1123,51 ± 310,04	276,17 ± 82,81	219,29 ± 45,94
18	1573,64 ± 263,65	1710,30 ± 424,30	353,45 ± 121,47	250,17 ± 74,70
21	2688,69 ± 502,39	2569,65 ± 633,35	494,53 ± 211,90	188,98 ± 105,80
23			597,70 ± 267,02	141,37 ± 73,76
25			671,93 ± 347,76	134,87 ± 75,67
28			879,64 ± 403,70	147,82 ± 70,88
30			1081,39 ± 426,80	133,13 ± 88,88
32				177,73 ± 112,81
36				233,44 ± 152,91
39				258,23 ± 158,67
42				316,58 ± 160,91
44				332,73 ± 152,43
46				456,13 ± 209,45
49				564,05 ± 262,32
51				925,92 ± 434,29
53				747,14 ± 350,90
56				1290,10 ± 584,62

[000260] O bloqueio de PD-1 (RMP1-14) sinergizou com a irradiação local (XRT) e induziu significativamente a regressão do tumor (4/6 camundongos) em camundongos portadores de tumor MC38, em comparação com camundongos tratados com controle de isotipo + XRT (2/6 camundongos). O crescimento do tumor foi inibido ou retardado em camundongos tratados com anticorpo anti-PD-1 em combinação com radiação. Os camundongos tratados com o anticorpo anti-PD-1 e a radiação demoraram mais de 40 dias para atingir o volume do tumor de 500 mm<sup>3</sup> em comparação com os camundongos em monoterapia, que demoraram menos de 20 dias para atingir 500 mm<sup>3</sup> do volume do tumor. A regressão do tumor foi mantida até 4 semanas para o grupo tratado (XRT + anticorpo anti-PD-1) (1 dos 4 tumores rejeitados recidivou neste momento) versus 1,5 semanas para o grupo tratado com isotipo + XRT (1 dos 2 tumores rejeitados recidivou). Neste modelo de tumor, o bloqueio de PD-1 como monoterapia não teve efeito no crescimento do tumor primário.

**Tabela 2:** Porcentagem de sobrevivência de camundongos administrados com anticorpo anti-PD-1 isoladamente ou em combinação com radiação

<b>Dias após a implantação</b>	<b>Isotipo</b>	<b>Anti-PD-1</b>	<b>Radiação + isotipo</b>	<b>Radiação + anti-PD-1</b>
4	100	100	100	100
7	100	100	100	100
8	100	100	100	100
10	100	100	100	100
14	100	100	100	100
16	100	100	100	100
18	100	100	100	100
21	100	100	100	100
23	100	83	100	100
25	67	50	100	100
28	33	50	100	100
30	17	17	100	100

Dias após a implantação	Isotipo	Anti-PD-1	Radiação + isotipo	Radiação + anti-PD-1
32	0	17	67	100
36	0	0	67	100
44	0	0	50	100
46	0	0	50	100
49	0	0	50	100
51	0	0	33	100
53	0	0	17	100
56	0	0	17	100
58	0	0	17	83
60	0	0	17	50
63	0	0	17	50
65	0	0	17	50
81	0	0	17	50
85	0	0	17	50

[000261] A eficácia terapêutica do tratamento de combinação (XRT + anticorpo anti-PD-1) foi demonstrada pela sobrevida geral estatisticamente aumentada deste grupo (50% vivos aos 70 dias após a implantação do tumor) em comparação com todos os outros grupos de tratamento: controle de isotipo (0% vivo em d70), tratamento com anticorpo anti-PD-1 (0% vivo em d70) e camundongos tratados com XRT + isotipo (17% vivo em d70) (Figura 3; Tabela 2).

Exemplo 2: Eficácia *in vivo* do anticorpo anti-PD-1 e radioterapia contra tumores B16

[000262] Neste Exemplo, o efeito antitumoral do anticorpo anti-PD-1 de camundongo em combinação com a radioterapia foi examinado contra tumores B16 estabelecidos em camundongos.

[000263]  $2 \times 10^5$  células de melanoma B16F10.9 foram implantadas subcutaneamente nos flancos direitos de camundongos C57BL/6 fêmeas (Jackson Laboratory). O tratamento foi iniciado quando os volumes médios do tumor atingiram aproximadamente  $150 \text{ mm}^3$ . Os

camundongos foram distribuídos randomicamente para receber ou controle de isotipo (2A3, BioXcell) ou anticorpo bloqueador de PD-1 (RMP1-14, BioXCell) a 5 mg/kg, 2x por semana, para um total de 5 injeções intraperitoneais. Um dia após o início do tratamento com anticorpo, os camundongos designados para os grupos de radioterapia receberam 8 Gy de irradiação nos tumores do flanco direito. A radioterapia foi realizada utilizando o irradiador de pesquisa biológica RS 2000 (Rad Source) para camundongos anestesiados (cetamina/xilazina) protegidos com aparelhos de irradiação parcial do corpo (raio X de precisão) e folhas de chumbo (Images Scientific Instruments). O crescimento do tumor foi avaliado 3x por semana até aos dias 70-80 quando todos os camundongos foram eutanasiados. A Figura 4 mostra o modelo de estudo do experimento que inclui a dosagem do anticorpo anti-PD-1 e a radiação.

[000264] O tratamento com anticorpo bloqueador de PD-1 (RMP1-14) em combinação com irradiação local (XRT) retardou o crescimento do tumor primário B16 em comparação com a monoterapia com XRT ou anticorpo anti-PD-1 (Figura 5; Tabela 3).

**Tabela 3:** Volumes médios de tumor em camundongos administrados com anticorpo anti-PD-1 isoladamente ou em combinação com radiação.

Dias após a implantação	Volume médio de tumor mm <sup>3</sup> ± SEM			
	Controle de isotipo	Anticorpo anti-PD-1	Controle de isotipo + radiação	Anticorpo anti-PD-1 + radiação
6	5,75 ± 5,75	8,32 ± 8,32	13,79 ± 13,79	1,14 ± 0,85
8	55,98 ± 27,15	62,66 ± 15,80	57,18 ± 37,79	50,57 ± 38,33
12	157,34 ± 37,88	144,36 ± 37,81	237,84 ± 71,27	177,91 ± 59,17
15	334,71 ± 61,71	193,32 ± 35,53	510,95 ± 171,15	372,53 ± 147,50
18	621,43 ± 136,09	363,80 ± 45,72	739,62 ± 244,10	440,33 ± 194,90
20	939,69 ± 158,50	561,64 ± 49,44	677,48 ± 175,75	486,35 ± 207,65
22	1329,77 ± 202,01	772,16 ± 118,26	759,15 ± 235,94	512,67 ± 220,30
25	2602,08 ± 434,08	1343,42 ± 120,65	1182,27 ± 336,32	789,80 ± 299,24
27		1533,03 ± 179,88	1321,13 ± 400,18	877,82 ± 296,51
29		2104,46 ± 350,48		944,67 ± 333,16
33				1024,71 ± 321,20
36				1237,68 ± 340,52

**Tabela 4:** Porcentagem de sobrevivência de camundongos administrados com anticorpo anti-PD-1 isoladamente ou em combinação com radiação.

<b>Dias após a implantação</b>	<b>Isotipo</b>	<b>Anti-PD-1</b>	<b>Radiação + isotipo</b>	<b>Radiação + anti-PD-1</b>
<b>0</b>	100	100	100	100
<b>6</b>	100	100	100	100
<b>8</b>	100	100	100	100
<b>12</b>	100	100	100	100
<b>15</b>	100	100	100	100
<b>18</b>	100	100	100	100
<b>20</b>	100	100	100	100
<b>22</b>	100	100	100	100
<b>25</b>	100	100	100	100
<b>27</b>	40	100	100	100
<b>29</b>	0	100	80	100
<b>33</b>	0	80	80	100
<b>36</b>	0	20	60	100
<b>39</b>	0	0	60	83



<b>Dias após a implantação</b>	<b>Isotipo</b>	<b>Anti-PD-1</b>	<b>Radiação + isotipo</b>	<b>Radiação + anti-PD-1</b>
<b>41</b>	0	0	60	83
<b>43</b>	0	0	20	67
<b>46</b>	0	0	20	67
<b>48</b>	0	0	20	50
<b>50</b>	0	0	0	50
<b>53</b>	0	0	0	33
<b>55</b>	0	0	0	33
<b>57</b>	0	0	0	33
<b>60</b>	0	0	0	17
<b>62</b>	0	0	0	17
<b>64</b>	0	0	0	17
<b>66</b>	0	0	0	0

[000265] A combinação de XRT mais tratamento com anticorpo anti-PD-1 aumentou a sobrevida geral (50% viva em d50 pós-implantação) em comparação com XRT isoladamente (0% vivo em d50), anticorpo anti-PD-1 isoladamente (0% vivo em d40) e isotipo isoladamente (0% vivo em d30) (Figura 6; Tabela 4).

Exemplo 3: Eficácia *in vivo* do anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia contra tumores de pulmão metastáticos

[000266] Neste exemplo, o efeito do bloqueio de PD-1 em combinação com a radioterapia foi examinado contra tumores estabelecidos e metastáticos em camundongos.

[000267] Foram implantadas  $1,5 \times 10^5$  células de carcinoma mamário 4T1 subcutaneamente nos flancos direitos de camundongos Balb/c fêmeas (Jackson Laboratory). O tratamento foi iniciado no dia 12 após a implantação quando os volumes médios de tumor atingiram aproximadamente  $100 \text{ mm}^3$ . Os camundongos foram distribuídos randomicamente para receber ou controle de isotipo (2A3, BioXcell) ou anticorpo bloqueador de PD-1 (RMP1-14, BioXCell) a  $5 \text{ mg/kg}$ , 2x por semana, para um total de 5 injeções intraperitoneais. Um dia após o início do tratamento com anticorpo, os camundongos designados para os grupos de radioterapia receberam  $8 \text{ Gy}$  de irradiação nos tumores do flanco direito. A radioterapia foi realizada utilizando o irradiador de pesquisa biológica RS 2000 (Rad Source) para camundongos anestesiados (cetamina/xilazina) protegidos com aparelhos de irradiação parcial do corpo (raio X de precisão) e folhas de chumbo (Images Scientific Instruments). O crescimento do tumor foi avaliado 3x por semana até o dia 28, quando todos os camundongos foram eutanasiados para avaliar a carga metastática do pulmão, utilizando um ensaio clonogênico. Resumidamente, o tecido pulmonar foi dissociado com DNase/Liberase TL (Roche) e cultivado em meio suplementado com  $60 \mu\text{M}$  de 6-tioguanina. Após duas semanas em cultura, as placas foram contrastadas com azul de metileno e o número de colônias numeradas (uma colônia representa uma célula 4T1 metastática).

[000268] Espera-se que o tratamento com anticorpo anti-PD-1 em combinação com radiação promova a regressão do tumor, bem como medeie a supressão do crescimento metastático.

Exemplo 4: A eficácia *in vivo* do anticorpo anti-PD-1 humano em combinação com radioterapia promove efeito abscopal contra tumores distais

[000269] Neste Exemplo, o efeito do bloqueio PD-1 em combinação com a radioterapia foi examinado contra tumores MC38 primários e distais em camundongos humanizados para PD-1 usando anticorpos anti-PD-1 humanos.

[000270] O anticorpo anti-PD-1 exemplificativo usado neste Exemplo é o REGN2810 (também conhecido como H4H7798N como descrito em US20150203579), um anticorpo monoclonal anti-PD-1 totalmente humano compreendendo uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10; um par de sequências de aminoácidos de HCVR/LCVR compreendendo SEQ ID NOs: 1/2; e sequências de CDR de cadeia pesada e de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 3-8.

[000271] Os camundongos humanizados para PD-1 foram manipulados utilizando a tecnologia VelociGene® (Valenzuela e outros, 2003, Nat. Biotechnol. 21: 652 a 659; Publicação do Pedido de Patente US 2015/0366174).

[000272]  $5 \times 10^5$  células de carcinoma do cólon MC38 foram implantadas subcutaneamente em camundongos fêmea humanizados PD-1/C57BL/6 no dia 0 (tumor primário no flanco direito) e no dia 3 (tumor no flanco esquerdo; tumor distal). O tratamento foi iniciado quando os volumes médios do tumor primário atingiram aproximadamente  $150 \text{ mm}^3$ . Os camundongos foram distribuídos randomicamente para receberem ou o isotipo de controle ou o anticorpo bloqueador de PD-1 (REGN2810) a 5 mg/kg, 2x por semana, para um total de 8 injeções intraperitoneais. Um dia após o início do tratamento com anticorpo, os camundongos designados para os grupos de

radioterapia receberam 8 Gy de irradiação nos tumores do flanco direito. A radioterapia foi realizada utilizando o irradiador de pesquisa biológica RS 2000 (Rad Source) em camundongos anestesiados (cetamina/xilazina) protegidos com aparelhos de irradiação parcial do corpo (raio X de precisão) e folhas de chumbo (Images Scientific Instruments). O crescimento do tumor primário e secundário foi avaliado 3x por semana até aos dias 70-80 quando todos os camundongos foram eutanasiados. A Figura 7 mostra o modelo de estudo do experimento que inclui a dosagem do anticorpo anti-PD-1 e a radiação.

### Resultados

[000273] Tumor Primário: O tratamento com bloqueio de PD-1 (REGN2810) sinergizou com a irradiação local (XRT) na rejeição de tumores primários MC38 (4 de 6 camundongos isentos de tumor) em comparação com camundongos tratados com o controle de isotipo + XRT (1/6 camundongos sem tumores). A regressão do tumor foi mantida no grupo tratado em combinação durante 8 semanas até ao final do experimento versus três semanas para o grupo tratado com controle de isotipo + XRT (o tumor rejeitado recidivou neste ponto do tempo) (Figura 8; Tabela 5).

**Tabela 5:** Volumes médios de tumor primário em camundongos administrados apenas com REGN2810 ou em combinação com radiação.

Dias após a implantação	Volume médio de tumor (mm <sup>3</sup> ± SEM)			
	Controle de isotipo	REGN2810	Controle de isotipo + radiação	REGN2810 + radiação
4	8,47 ± 5,22	13,86 ± 7,13	9,02 ± 3,07	3,75 ± 3,75
5	14,32 ± 4,76	22,08 ± 2,69	27,54 ± 4,90	10,00 ± 3,17
7	39,43 ± 5,36	35,47 ± 6,73	42,72 ± 8,00	32,80 ± 10,60
9	62,68 ± 12,03	84,73 ± 20,91	68,27 ± 11,65	47,26 ± 11,65
10	111,78 ± 24,45	108,15 ± 27,17	96,18 ± 18,07	75,13 ± 11,56
11	147,89 ± 36,11	176,67 ± 43,99	111,87 ± 10,12	110,27 ± 25,02
12	171,76 ± 41,23	154,97 ± 44,16	153,69 ± 16,06	121,88 ± 29,86
14	304,95 ± 94,96	221,70 ± 65,96	147,22 ± 19,77	144,71 ± 34,28
17	609,24 ± 227,64	296,69 ± 95,14	116,65 ± 27,03	135,26 ± 57,41
19		369,17 ± 128,37	114,85 ± 38,73	124,59 ± 55,50
21		442,13 ± 158,80	127,77 ± 36,92	130,00 ± 78,30
24		641,92 ± 275,23	198,40 ± 67,81	113,25 ± 74,51
26		896,32 ± 389,54	252,51 ± 98,39	116,90 ± 101,35
28		1200,99 ± 498,27	331,78 ± 125,55	120,05 ± 89,32
31			477,34 ± 181,97	168,62 ± 151,18
33				189,07 ± 154,91
35				164,70 ± 127,33
38				216,32 ± 159,47
40				219,35 ± 156,39
42				292,37 ± 204,83

[000274] O bloqueio de PD-1 como rejeição mediada por monoterapia em 2 de 5 camundongos; no entanto, um dos camundongos que rejeitou seu tumor primário, sucumbiu ao crescimento de tumor secundário, resultando em apenas 1 camundongo sobrevivendo até o final do experimento. A eficácia potente terapêutica do tratamento de combinação (XRT + REGN2810) foi demonstrada pela sobrevida geral estatisticamente aumentada (~ 67% vivos aos 70 dias após a implantação do tumor) em comparação com todos os outros grupos: controle de isotipo ou XRT isoladamente (0% vivo em d70) e REGN2810 como uma monoterapia (20% vivo em d70) (Figura 9; Tabela 6).

Tabela 6: Porcentagem de sobrevida de camundongos administrados apenas com REGN2810 ou em combinação com radiação.

<b>Dias após a implantação</b>	<b>Isotipo</b>	<b>REGN2810</b>	<b>Radiação + isotipo</b>	<b>Radiação + REGN2810</b>
<b>0</b>	100	100	100	100
<b>4</b>	100	100	100	100
<b>5</b>	100	100	100	100
<b>7</b>	100	100	100	100
<b>9</b>	100	100	100	100
<b>10</b>	100	100	100	100
<b>11</b>	100	100	100	100
<b>12</b>	100	100	100	100
<b>14</b>	100	100	100	100
<b>17</b>	100	100	100	100
<b>19</b>	83	100	100	100
<b>21</b>	83	100	100	100
<b>24</b>	83	100	100	100
<b>26</b>	50	100	100	100
<b>28</b>	33	100	100	100
<b>31</b>	33	67	100	100
<b>33</b>	33	33	83	100
<b>35</b>	33	33	67	100
<b>38</b>	33	33	50	100

Dias após a implantação	Isotipo	REGN2810	Radiação + isotipo	Radiação + REGN2810
40	17	17	50	100
42	17	17	50	100
44	17	17	50	100
49	0	17	17	83
54		17	0	83
56		17	0	83
59		17	0	83
61		17	0	67
63		17	0	67

[000275] Tumor distal: O REGN2810 em combinação com XRT promoveu significativamente um efeito abscopal (rejeição de um tumor implantado em um sítio distal) com 5 em 6 camundongos isentos de tumor em comparação com XRT isoladamente (2/6 livre de tumor distal), REGN2810 isoladamente (1/6 livre de tumor distal), e camundongos tratados com controle de isotipo (1/6 livre de tumor distal) (Figura 10; Tabela 7).

Tabela 7: Volumes médios de tumor distal em camundongos administrados com REGN2810 isoladamente ou em combinação com radiação.

Dias após a implantação	Volume médio de tumor (mm <sup>3</sup> ± SEM)			
	Controle de isotipo	REGN2810	Controle de isotipo + radiação	REGN2810 + radiação
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
4	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	11,13 ± 11,13	0	0	0
8	20,01 ± 20,01	0	3,26 ± 3,26	0
9	25,43 ± 25,43	7,00 ± 7,00	9,75 ± 9,75	0
11	31,93 ± 29,32	42,24 ± 26,88	28,81 ± 17,01	12,13 ± 12,13
14	56,20 ± 34,46	59,40 ± 29,41	57,64 ± 29,91	20,93 ± 14,07

Dias após a implantação	Volume médio de tumor (mm <sup>3</sup> ± SEM)			
	Controle de isotipo	REGN2810	Controle de isotipo + radiação	REGN2810 + radiação
16		58,64 ± 29,57	95,78 ± 52,87	14,03 ± 9,79
18		151,71 ± 76,86	115,16 ± 59,43	22,87 ± 16,20
21		207,13 ± 128,83	227,22 ± 105,46	17,01 ± 17,01
23		333,43 ± 220,57	335,13 ± 148,86	9,51 ± 9,51
25		506,55 ± 355,36	503,71 ± 211,49	11,45 ± 11,45
28			968,92 ± 418,57	31,59 ± 31,59
30				57,40 ± 57,40
32				83,94 ± 83,94
35				133,89 ± 133,89
37				224,65 ± 224,65

**Exemplo 5:** Eficácia *in vivo* do anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia e um antagonista de GTR contra tumores MC38

[000276] Neste Exemplo, o efeito do bloqueio de PD-1 em combinação com radioterapia e um antagonista de receptor de fator de necrose tumoral induzido por glicocorticoides (GTR) (um anticorpo anti-GTR) foi examinado contra tumores MC38 grandes estabelecidos em camundongos.

[000277]  $5 \times 10^5$  células de carcinoma do cólon MC38 foram implantadas subcutaneamente nos flancos direitos de camundongos C57BL/6 fêmeas (Jackson Laboratory). O tratamento foi iniciado quando os volumes médios do tumor atingiram aproximadamente 150-200 mm<sup>3</sup> (categorizados como "tumores grandes"). Os camundongos foram distribuídos randomicamente para receber o anticorpo de controle de isotipo (2A3 ou LTF-2; BioXcell), um anticorpo anti-PD-1 (RMP1-14; BioXcell), um anticorpo anti-GTR (DTA-1; BioXcell) ou a combinação de anticorpo anti-PD-1 e anticorpo anti-GTR a 5 mg/kg, 2x por semana, para um total de 5 injeções intraperitoneais. Um dia após o início do tratamento com anticorpo, os camundongos designados para os grupos de radioterapia receberam 8 Gy de irradiação nos tumores do flanco



direito. A radioterapia foi realizada utilizando o irradiador de pesquisa biológica RS 2000 (Rad Source) para camundongos anestesiados (cetamina/xilazina) protegidos com aparelhos de irradiação parcial do corpo (raio X de precisão) e folhas de chumbo (Images Scientific Instruments). O crescimento tumoral foi avaliado 3x por semana até os dias 70-80 quando todos os camundongos foram eutanasiados. A Figura 11 mostra o modelo de estudo do experimento que inclui a dosagem do anticorpo anti-PD-1, anticorpo anti-GITR e radiação.

[000278] O tratamento com anticorpo anti-PD-1 (RMP1-14) sinergizou com a irradiação local (XRT) e o anticorpo anti-GITR na rejeição de tumores MC38 grandes (4 de 6 camundongos livres de tumor) em comparação com XRT + Anticorpo anti-GITR (2/6 livres de tumor), XRT + anticorpo anti-PD-1 (2/6 rejeitado), ou XRT isoladamente (0/6 livres de tumor) camundongos tratados. Monoterapia (com anticorpo anti-PD-1 ou anticorpo anti-GITR) ou tratamento de combinação (anticorpo anti-PD-1 + anticorpo anti-GITR) teve efeito mínimo no crescimento do tumor com anticorpo anti-PD-1 ou tratamento com anticorpo anti-GITR mediando rejeição em camundongos 1/5 e a combinação dos dois anticorpos mediando a rejeição em 2/5 camundongos. A regressão do tumor foi mantida durante até 6,5 semanas após o início do tratamento para os camundongos tratados com tripla combinação versus 2 semanas para os camundongos tratados com XRT + anticorpo anti-GITR (Figura 12).

**Tabela 8:** Porcentagem de sobrevivência de camundongos administrados com anticorpo anti-PD-1 em combinação com radiação e anticorpo anti-GITR.

Dias após a implantação	Isotipo	Anti-PD-1	Anti-GITR	Anti-PD-1 + anti-GITR	Radiação + isotipo	Radiação + anti-PD-1	Radiação + anti-GITR	Radiação + anti-PD-1 + anti-GITR
0	100	100	100	100	100	100	100	100
28	100	100	80	100	100	100	100	100
32	80	80	80	80	100	100	100	100
35	60	60	40	60	100	80	83	100
38	20	20	20	60	40	80	50	100
41	0	20	20	60	20	60	50	100
48	0	20	20	60	0	60	50	83
56	0	20	20	40	0	40	33	67
66	0	20	20	40	0	40	17	67
77	0	20	20	40	0	40	17	67

[000279] A Tabela 8 e a Figura 13 mostram a sobrevivência de camundongos administrados com anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia e anticorpo anti-GITR. Além disso, a administração de anticorpo anti-PD-1 + XRT levou à regressão tumoral de tumores muito grandes (~ 300 mm<sup>3</sup>).

Exemplo 6: Eficácia *in vivo* do anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia e um antagonista de GITR contra tumores B16

[000280] Neste Exemplo, o efeito do bloqueio de PD-1 em combinação com a radioterapia e um antagonista de GITR (anticorpo anti-GITR) foi examinado contra tumores B16 estabelecidos em camundongos.

[000281]  $2,5 \times 10^5$  células de melanoma B16F10.9 foram implantadas subcutaneamente nos flancos direitos de camundongos C57BL/6 fêmeas (Jackson Laboratory). O tratamento foi iniciado quando os volumes médios do tumor atingiram aproximadamente  $100 \text{ mm}^3$ . Os camundongos foram randomicamente designados para receber controles de isotipo (2A3, LTF-2, BioXcell), anticorpo anti-PD-1 (RMP1-14, BioXcell), anticorpo anti-GITR (DTA-1; BioXcell), ou a combinação tanto do anticorpo anti-PD-1 quanto do anticorpo anti-GITR a 5 mg/kg, 2x por semana, para um total de 5 injeções intraperitoneais. Um dia após o início do tratamento com anticorpo, os camundongos designados para os grupos de radioterapia receberam 8 Gy de irradiação nos tumores do flanco direito. A radioterapia foi realizada utilizando o irradiador de pesquisa biológica RS 2000 (Rad Source) para camundongos anestesiados (cetamina/xilazina) protegidos com aparelhos de irradiação parcial do corpo (raio X de precisão) e folhas de chumbo (Images Scientific Instruments). O crescimento tumoral foi avaliado 3x por semana até os dias 70-80 quando todos os camundongos foram eutanasiados.

[000282] É esperado que o anticorpo anti-PD-1 em combinação com o anticorpo anti-GITR e a radioterapia promova mais regressão do tumor e retardo no crescimento do tumor do que a monoterapia ou o anticorpo anti-PD-1 em combinação com radioterapia.

Exemplo 7: Ensaio clínico do anticorpo anti-PD-1 e radioterapia em pacientes com tumores sólidos avançados

[000283] Este estudo é um estudo de escalonamento de dose aberto, multicêntrico, com escalonamento de múltiplas doses e braços de expansão para investigar a eficácia, segurança e tolerabilidade do anticorpo anti-PD-1 isoladamente e em combinação com outras terapias anticâncer (incluindo radioterapia), em pacientes adultos com tumores sólidos avançados.

[000284] O anticorpo anti-PD-1 exemplificativo utilizado neste estudo é o REGN2810 (também conhecido como H4H7798N como descrito em US20150203579), um anticorpo monoclonal anti-PD-1 totalmente humano compreendendo uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 9 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10; um par de sequências de aminoácidos de HCVR/LCVR compreendendo SEQ ID NOs: 1/2; e sequências de CDR da cadeia pesada e de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 3-8.

#### Objetivos do Estudo

[000285] O objetivo primário do estudo é caracterizar a segurança, tolerabilidade, toxicidades dose-limitantes (DLTs) de REGN2810 administradas por via intravenosa (IV) como monoterapia, ou em combinação com radiação direcionada (com a intenção de que isso sirva como uma terapia imunoestimuladora, em vez de primariamente ablativa ao tumor), ciclofosfamida de baixa dose (a terapia que inibe respostas de células T reguladora), fator estimulante de colônias de macrófagos e granulócitos, carboplatina, docetaxel ou uma combinação destes em pacientes com malignidades avançadas.

[000286] Os objetivos secundários do estudo são: (1) determinar a dose recomendada para a fase 2 (RP2D) do REGN2810 como monoterapia e em combinação com outras terapias anticâncer (radiação direcionada, ciclofosfamida de baixa dose, ou ambos); (2) descrever a atividade antitumoral preliminar de REGN2810, isoladamente e com

cada parceiro de combinação; (3) caracterizar a PK do REGN2810 como monoterapia e em combinação com outras terapias anticâncer (radiação direcionada, ciclofosfamida de baixa dose ou ambos); e (4) avaliar a imunogenicidade de REGN2810.

#### Fundamentação do Modelo de Estudo

[000287] O modelo 3 + 3 para a fase de escalonamento de dose deste estudo destina-se a permitir a avaliação da segurança de REGN2810, tanto como monoterapia em diferentes níveis de dose, como em combinação com tratamentos imune-melhoradores: ciclofosfamida; radiação limitada e direcionada administrada em 1 de 2 regimes de dosagem; ou radiação combinada e ciclofosfamida.

[000288] Uma vez que a tolerabilidade de REGN2810 foi estabelecida isoladamente e em combinação com radiação e/ou ciclofosfamida, coortes de expansão múltipla usando várias combinações ou monoterapia em indicações selecionadas [NSCLC, BC, HNSCC, CCCC, tumores com MSI (colorretal, endometrial, próstata, ou outros tipos de tumor), HCC, e outros tumores sólidos avançados] são adicionados a fim de confirmar a segurança e avaliar o aumento da atividade antitumoral. O fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), carboplatina e/ou docetaxel são adicionados a algumas dessas combinações.

[000289] A Tabela 9 lista algumas das coortes utilizando a monoterapia com REGN2810 e em combinação com outras modalidades de tratamento.

Tabela 9: Uma lista de algumas coortes de expansão para monoterapia com REGN2810 e terapias de combinação.

Coorte	Indicação	Tratamento
1	Câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC)	Dose padrão – 200 mg REGN2810
2	NSCLC	3 mg/kg REGN2810 + radioterapia (9 Gy × 3)

<b>Coorte</b>	<b>Indicação</b>	<b>Tratamento</b>
3	Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSCC)	3 mg/kg REGN2810 + radioterapia (9 Gy × 3) + ciclofosfamida + GM-CSF
4	Câncer de mama (BC)	3 mg/kg REGN2810 + radioterapia (9 Gy × 3) + ciclofosfamida
5	Tumores sólidos avançados – Tratamento prévio com um anticorpo anti PD-1/PD-L1	3 mg/kg REGN2810+ radioterapia (9 Gy × 3) + ciclofosfamida + GM-CSF
6	Tumores sólidos avançados (excluindo NSCLC, HNSCC, e BC)	3 mg/kg REGN2810+ radioterapia (9 Gy × 3) + ciclofosfamida + GM-CSF
7	Carcinoma de células escamosas cutâneas (CSCC) metastáticas	3 mg/kg REGN2810
8	CSCC locamente e/ou regionalmente avançado (M0) que não é ressecionável	3 mg/kg REGN2810
9	Câncer colorretal metastático com instabilidade de microsatélite (MSI)	3 mg/kg REGN2810
10	Câncer endometrial metastático com MSI	3 mg/kg REGN2810
11	Câncer de próstata recorrente em castração com MSI	3 mg/kg REGN2810
12	Qualquer outro tumor sólido avançado com MSI	3 mg/kg REGN2810
13	Câncer hepatocelular avançado ou metastático (HCC)	3 mg/kg REGN2810
14	Tumor sólido avançado refratário à quimioterapia de primeira linha	3 mg/kg REGN2810 + carboplatina + docetaxel (baixa dose)
15	Tumor sólido avançado refratário à quimioterapia de primeira linha	3 mg/kg REGN2810 + docetaxel (baixa dose)
16	Câncer colorretal metastático com MSI, previamente não tratado	3 mg/kg REGN2810
17	NSCLC avançado previamente não tratado	3 mg/kg REGN2810 + carboplatina + docetaxel (baixa dose)
18	Glioblastoma multiforme recém-diagnosticado (GBM)	REGN2810 (1 ou 3 mg/kg) + radioterapia (6 Gy x 5 dias)
19	GBM recorrente	REGN2810 (1 ou 3 mg/kg) + radioterapia (6 Gy x 5 dias)

<b>Coorte</b>	<b>Indicação</b>	<b>Tratamento</b>
20	HIV e tumores sólidos	3 mg/kg REGN2810
21	NSCLC avançado, previamente não tratado	3 mg/kg REGN2810 + Carboplatina + Paclitaxel (Dose completa)
22	NSCLC não escamoso avançado, previamente não tratado	3 mg/kg REGN2810 + Cisplatina + Pemetrexed
23	NSCLC escamoso avançado, previamente não tratado	3 mg/kg REGN2810 + Cisplatina + Gemcitabina
24	Câncer Cervical, recorrente ou metastático	3 mg/kg REGN2810
25	Carcinoma basocelular, refratário à inibição da via de sinalização hedgehog	3 mg/kg REGN2810
26	Tumor sólido avançado	3 mg/kg REGN2810

[000290] O tratamento inicial planejado com REGN2810 é a cada 14 dias por até 48 semanas, com 24 semanas de observação de acompanhamento. A radiação é administrada uma semana após a primeira dose de REGN2810. Ciclofosfamida em baixas doses é administrada a pacientes designados para ciclofosfamida 1 dia antes de cada uma das primeiras 4 doses de REGN2810.

#### Duração do Estudo

[000291] Os pacientes recebem até 48 semanas de tratamento, após o qual há um período de acompanhamento de 24 semanas. Um paciente recebe tratamento até que o período de tratamento de 48 semanas esteja completo, ou até a progressão da doença, toxicidade inaceitável, retirada do consentimento, ou reunião de outro critério de retirada do estudo. Após um mínimo de 24 semanas de tratamento, os pacientes com resposta completa confirmada (CR) podem optar por interromper o tratamento e continuar com todas as avaliações relevantes do estudo (por exemplo, avaliações de eficácia). Após um mínimo de 24 semanas de tratamento, os pacientes com avaliações da carga tumoral de doença estável (SD) ou resposta parcial (PR) que não foram alteradas para 3 avaliações tumorais sucessivas também podem

optar por interromper o tratamento e continuar com todas as avaliações relevantes do estudo (por exemplo, avaliações de eficácia).

#### População de Estudo

[000292] A população alvo para este estudo compreende pacientes com malignidades avançadas que não são candidatos à terapia padrão, que não desejam se submeter à terapia padrão, ou para quem não se espera que a terapia disponível traga benefício clínico; e pacientes com malignidades que são incuráveis e não responderam ou mostraram progressão do tumor apesar da terapia padrão.

[000293] Critérios de inclusão: Um paciente deve preencher os seguintes critérios para ser elegível para inclusão no estudo: (1) demonstrar a progressão de um tumor sólido sem alternativa terapêutica padrão disponível; (2) ao menos 1 lesão para avaliação da resposta. Os pacientes designados para radioterapia precisam de ao menos uma lesão adicional que possa ser irradiada com segurança, poupando as lesões de índice e para as quais a radiação nas doses paliativas limitadas consideradas seria considerada clinicamente apropriada; (3) os pacientes devem ter recidivado após, ou ser refratários à terapia de primeira linha (e até duas linhas anteriores de terapia) no cenário de doença recorrente ou metastática e devem ter doença para a qual a radioterapia paliativa é indicada; (4) pacientes com câncer metastático com instabilidade de microssatélites (MSI) refratários a até 2 linhas anteriores de terapia; (5) estado de desempenho do Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)  $\leq 1$ ; (6) mais de 18 anos de idade; (7) função hepática: a. bilirrubina total  $\leq 1,5x$  limite superior do normal (ULN; se metástases hepáticas  $\leq 3x$  ULN), b. transaminases  $\leq 3x$  ULN (ou  $\leq 5,0x$  ULN, se metástases no fígado), c. fosfatase alcalina (ALP)  $\leq 2,5x$  ULN (ou  $5,0 x$  ULN, se metástases do fígado); (8) função renal: creatinina sérica  $\leq 1,5 x$  ULN; (9) contagem de neutrófilos (ANC)  $\geq 1,5 x 10^9/L$ , c. contagem de plaquetas  $\geq 75 x 10^9/L$ ; (10) capacidade de



fornecer consentimento informado assinado; e (11) capacidade e vontade de cumprir as visitas programadas, planos de tratamento, testes laboratoriais e outros procedimentos relacionados ao estudo.

#### Tratamentos de Estudo

[000294] O REGN2810 é fornecido como um líquido em frascos estéreis de uso único. Cada frasco contém um volume suficiente para retirar 10 mL de REGN2810 a uma concentração de 25 mg/mL. O REGN2810 é administrado em ambiente ambulatorial como uma infusão intravenosa de 30 minutos. A dose de cada paciente depende do peso corporal individual. A dose de REGN2810 é ajustada em cada ciclo para alterações no peso corporal de  $\geq 10\%$ . O REGN2810 é administrado isoladamente, ou em combinação com radiação e/ou ciclofosfamida. A ciclofosfamida é administrada a 200 mg/m<sup>2</sup> ou em dose baixa (100 mg/m<sup>2</sup>).

#### Monoterapia

[000295] O REGN2810 é administrado em ambiente ambulatorial por infusão IV durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas (isto é, Dias 1, 15  $\pm$  3, 29  $\pm$  3 e 43  $\pm$  3 de um ciclo de 56 dias). Os regimes de monoterapia planejada a serem atribuídos podem incluir: (i) 1 mg/kg de infusão IV durante 30 minutos a cada 14 dias por 48 semanas; (ii) 3 mg/kg de infusão durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas; (iii) infusão de 10 mg/kg durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas; (iv) infusão de 0,3 mg/kg durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas (se MTD for determinada abaixo de 1 mg/kg); e (v) infusão IV de dose única de 200 mg durante 30 minutos a cada 14 dias por 48 semanas.

#### Terapia de Combinação

[000296] A radioterapia, ciclofosfamida, GM-CSF, carboplatina e docetaxel em simultâneo é fornecida através de uma prescrição e seu uso, dose, modificações de dose, reduções ou retardos, bem como

quaisquer potenciais AEs resultantes do seu uso, são rastreados junto com os de REGN2810.

[000297] Coadministração de REGN2810 e radiação: O REGN2810 é administrado por infusão IV durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas em combinação com tratamento de radiação do dia 8 ao dia 12. A combinação planejada de REGN2810 e os regimes de radioterapia pode incluir:

[000298] • 1 mg/kg de infusão de REGN2810 durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas mais

[000299] Radioterapia de 30 Gy (6 Gy × 5 vezes/semana; administrada 1 semana após a primeira dose de REGN2810, de preferência em dias consecutivos)

[000300] • 1 mg/kg de infusão de REGN2810 durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas mais

[000301] Radioterapia de 27 Gy (9 Gy × 3 vezes/semana; administrada 1 semana após a primeira dose de REGN2810, de preferência não em dias consecutivos)

[000302] • 3 mg/kg de infusão de REGN2810 durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas mais

[000303] Radioterapia de 30 Gy (6 Gy × 5 vezes/semana; administrada 1 semana após a primeira dose de REGN2810, de preferência em dias consecutivos)

[000304] • 3 mg/kg de infusão de REGN2810 durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas mais

[000305] Radioterapia de 27 Gy (9 Gy × 3 vezes/semana; administrada 1 semana após a primeira dose de REGN2810, de preferência não em dias consecutivos)

[000306] Os pacientes receberão 30 Gy administrados como 5 frações de 6 Gy administradas diariamente começando uma semana após a primeira dose de REGN2810, ou 27 Gy administradas como 3 frações

de 9 Gy administradas em dias alternados começando 1 semana após a primeira dose de REGN2810. A lesão selecionada para radiação deveria ser uma lesão que possa ser irradiada com segurança com irradiação focal enquanto poupa a(s) lesão(ões) índice, e para as quais a radiação nas doses paliativas limitadas consideradas seria considerada clinicamente apropriada.

[000307] Coadministração de REGN2810 e ciclofosfamida: REGN2810 é administrado por infusão IV durante 30 minutos a cada 14 dias (2 semanas) durante 48 semanas em combinação com uma dose baixa de infusão IV de 100 mg/m<sup>2</sup> de ciclofosfamida a cada 14 dias durante 4 doses. Cada uma das 4 doses de ciclofosfamida é administrada 1 dia antes de cada uma das primeiras 4 doses de REGN2810 (dias -1, 14, 28 e 42 do primeiro ciclo de 56 dias).

[000308] A combinação planejada REGN2810 e regime de ciclofosfamida é:

[000309] • 100 mg/m<sup>2</sup> ou 200 mg/m<sup>2</sup> IV de ciclofosfamida a cada 14 dias (dias -1, 14, 28 e 42 do primeiro ciclo de 56 dias) para um total de 4 doses; mais

[000310] • 3 mg/kg de infusão de REGN2810 durante 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas (desde uma dose de monoterapia de 3 mg/kg < MTD; se 3 mg/kg > MTD, a dose será de 1 mg/kg).

[000311] Coadministração de REGN2810, radiação e ciclofosfamida: A combinação planejada REGN2810, radiação e regime de ciclofosfamida inclui:

[000312] • 100 mg/m<sup>2</sup> (baixa dose) IV de ciclofosfamida a cada 14 dias (dias -1, 14, 28 e 42 do primeiro ciclo de 56 dias) para um total de 4 doses; mais

[000313] • radioterapia de 27 Gy (9 Gy × 3 vezes/semana; administrada 7 ou 8 dias após a primeira dose de REGN2810, de preferência não em dias consecutivos) ou radioterapia de 30 Gy (6 Gy × 5

vezes/semana; administrada 7 ou 8 dias após a primeira dose de REGN2810, de preferência em dias consecutivos); mais

[000314] • 3 mg/kg de infusão de REGN2810 ao longo de 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas (desde uma dose de monoterapia de 3 mg/kg < MTD; se 3 mg/kg > MTD, a dose será de 1 mg/kg)

[000315] Coadministração de REGN2810, radiação e GM-CSF: A combinação planejada de REGN2810, radiação e GM-CSF inclui:

[000316] • 250 mcg SC de GM -CSF diariamente durante 7 dias, durante quatro intervalos de 7 dias (dias 1 a 7, 15 a 21, 29 a 35 e 43 a 49 do primeiro ciclo de 56 dias); mais

[000317] • Radioterapia de 27 Gy (9 Gy × 3 vezes/semana; administrada 1 semana após a primeira dose de REGN2810, de preferência não em dias consecutivos); mais

[000318] • 3 mg/kg de infusão de REGN2810 ao longo de 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas (desde uma dose de monoterapia de 3 mg/kg < MTD; se 3 mg/kg > MTD, a dose será de 1 mg/kg)

[000319] Coadministração de REGN2810, radiação, GM-CSF e ciclofosfamida: A combinação planejada de REGN2810, radiação, GM-CSF e esquema de ciclofosfamida inclui:

[000320] • 250 mcg SC de GM-CSF diariamente durante 7 dias, durante quatro intervalos de 7 dias (dias 1 a 7, 15 a 21, 29 a 35 e 43 a 49 do primeiro ciclo de 56 dias); mais

[000321] • Radioterapia de 27 Gy (9 Gy × 3 vezes/semana; administrada 1 semana após a primeira dose de REGN2810, de preferência não em dias consecutivos); mais

[000322] • 100 mg/m<sup>2</sup> ou 200 mg/m<sup>2</sup> IV de ciclofosfamida a cada 14 dias (dias -1, 14, 28 e 42 do primeiro ciclo de 56 dias) para um total de 4 doses; mais

[000323] • 3 mg/kg de infusão de REGN2810 ao longo de 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas (desde uma dose de monoterapia de 3

mg/kg < MTD; se 3 mg/kg > MTD, a dose será de 1 mg/kg)

[000324] Coadministração de REGN2810 e docetaxel com ou sem carboplatina: A sequência sugerida de administração de fármaco é docetaxel seguida por carboplatina (se inscrita em uma coorte contendo carboplatina), seguida por REGN2810:

[000325] • 30 mg/m<sup>2</sup> IV de docetaxel durante aproximadamente 1 hora nos dias 1, 8, 29 e 36 do primeiro ciclo de 56 dias. 8 mg IV de dexametasona serão administrados antes da primeira dose de docetaxel. Para tratamentos subsequentes com docetaxel, a dose de pré-medicação de dexametasona pode ser de 8 mg ou 4 mg, por critério do investigador.

[000326] • Carboplatina AUC 2 IV durante aproximadamente 30 minutos nos dias 1, 8, 29 e 36 do primeiro ciclo de 56 dias. A dosagem de carboplatina deve usar a Fórmula de Calvert no rótulo de carboplatina. O clearance de creatinina deveria ser calculado usando a equação de Cockcroft-Gault.

[000327] • 3 mg/kg de infusão de REGN2810 durante aproximadamente 30 minutos a cada 14 dias durante 48 semanas.

#### Procedimentos e Avaliações

[000328] Os procedimentos de triagem a serem realizados incluem beta-HCG sérico, MRI cranioencefálica e raio X de tórax.

[000329] Os procedimentos de segurança incluem histórico médico, exame físico, sinais vitais, eletrocardiograma (ECG), coagulação, testes de segurança imunológica (para pacientes tratados com REGN2810), avaliação de sintomas B e avaliação do estado de desempenho, testes clínicos laboratoriais, AEs e medicações concomitantes.

[000330] Os procedimentos de eficácia a serem realizados para avaliações de tumores incluem varreduras CT ou MRI, tomografias com emissão de fluoretooxiglicose-pósitrons com 18F (FDG-PET) e/ou biópsias tumorais. A CT ou MRI para avaliação do tumor é realizada na

visita de triagem (nos 28 dias anteriores à infusão) e durante cada ciclo (aproximadamente a cada 8 semanas) no dia  $56 \pm 3$ , e quando há suspeita de progressão da doença. Além disso, para pacientes que não progrediram no estudo, avaliações do tumor são realizadas para visitas de acompanhamento 3, 5 e 7. Uma vez que a escolha foi feita para usar CT ou MRI, avaliações subsequentes são feitas usando a mesma modalidade. As avaliações da resposta tumoral são realizadas de acordo com os Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos RECIST versão 1.1 (Eisenhauer e outros, 2009, Eur. J. Câncer 45: 228 a 247). As lesões mensuráveis selecionadas como lesões alvo para medições RECIST também estão inclusas como lesões de referência para critérios de resposta imune (irRC; Nishino e outros 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936 a 3943). A resposta RECIST é priorizada como avaliação estatística da taxa de resposta. Para um paciente individual, o irRC pode informar a decisão sobre a continuação do tratamento, a critério do investigador, devido à possibilidade de respostas não convencionais.

[000331] Amostras de sangue para avaliação de PK e anticorpo anti-fármaco (ADA) são coletadas.

#### Variáveis de Estudo

[000332] As variáveis primárias do estudo são a incidência de DLT e a incidência e gravidade de TEAEs e resultados laboratoriais anormais ao longo de 48 semanas de tratamento.

[000333] As variáveis secundárias são:

[000334] • Atividades antitumorais avaliadas usando os critérios apropriados para a indicação (aqui descrita em outros lugares):

[000335] ◇ Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST; Eisenhauer e outros 2009, Eur. J. Câncer 45: 228 a 247)  
critérios medidos por CT ou MRI

[000336] ◇ Outros critérios de avaliação também são usados para

tumores específicos nos quais as medições RECIST não são o padrão.

[000337] ◇ Critérios de Resposta Imune (irRC; Nishino e outros 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936 a 3943) aplicados a medições RECIST. Em todos os casos, RECIST (ou outros critérios tumor-específicos) é a ferramenta que rege a determinação de PD, SD, CR ou PR. O irRC é coletado para decisões clínicas e fins informativos.

[000338] • Incidência de desenvolvimento de anticorpos anti-REGN2810

[000339] • Atividade antitumoral medida por PFS e sobrevida geral

[000340] Para os fins deste estudo, os pacientes são reavaliados quanto à resposta a cada 8 semanas. Os exames confirmatórios também são obtidos 4 semanas após a documentação inicial de resposta objetiva ou doença progressiva. A resposta e a progressão são avaliadas neste estudo usando os critérios internacionais propostos pela diretriz revisada dos Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST) (versão 1.1; Eisenhauer e outros, 2009, Eur. J. Câncer 45: 228 a 247). Alterações no maior diâmetro (medida unidimensional) das lesões tumorais e no menor diâmetro no caso de nódulos linfáticos malignos são utilizadas nos critérios RECIST.

#### Seleção de Lesões

[000341] Doença mensurável: As lesões mensuráveis são definidas como aquelas que podem ser medidas com precisão em ao menos uma dimensão (o maior diâmetro a ser registrado) como  $\geq 20$  mm ( $\geq 2$  cm) raio X de tórax ou como  $\geq 10$  mm ( $\geq 1$  cm) com varredura CT, MRI ou paquímetros por exame clínico. Todas as medidas do tumor devem ser registradas em milímetros (ou frações decimais de centímetros). Nota: Ver abaixo a avaliação das lesões alvo irradiadas.

[000342] Nódulos linfáticos malignos: Para ser considerado patologicamente aumentado e mensurável, um nódulo linfático deve ter  $\geq 15$  mm ( $\geq 1,5$  cm) em eixo curto quando avaliado por CT (espessura

da fatia de varredura CT recomendada não superior a 5 mm [0,5 cm]). No início e no acompanhamento, apenas o eixo curto será medido e acompanhado.

[000343] Doença não mensurável: Todas as outras lesões (ou sítios de doença), incluindo pequenas lesões (diâmetro maior < 10 mm [< 1 cm] ou nódulos linfáticos patológicos com  $\geq 10$  a < 15 mm [ $\geq 1$  a < 1,5 cm eixo curto]), são considerados doença não mensurável. Lesões ósseas, doença leptomeníngea, ascite, efusões pleural/pericárdicas, linfangite cutânea/pneumopatia, doença inflamatória da mama e massas abdominais (não seguidas por CT ou MRI) são consideradas não mensuráveis. Nota: Lesões císticas que satisfazem os critérios para cistos simples definidos radiograficamente não devem ser consideradas como lesões malignas (nem mensuráveis nem não mensuráveis), pois são, por definição, cistos simples. As "lesões císticas" que se acredita representarem metástases císticas podem ser consideradas como lesões mensuráveis, se atenderem à definição de mensurabilidade descrita acima. No entanto, se lesões não císticas estiverem presentes no mesmo paciente, elas são preferenciais para a seleção como lesões alvo.

[000344] Lesões alvo: Todas as lesões mensuráveis até um máximo de 2 lesões por órgão e 5 lesões no total, representativas de todos os órgãos envolvidos, deveriam ser identificadas como lesões alvo e registadas e medidas no início do estudo. As lesões alvo são selecionadas com base em seu tamanho (lesões com o maior diâmetro), são representativas de todos os órgãos envolvidos, mas, além disso, incluem aquelas que se prestam a repetidas medidas reproduzíveis. Pode ser o caso de que, ocasionalmente, a maior lesão não se presta a uma medida reproduzível, circunstância na qual a próxima lesão maior que pode ser medida de reproduzível é selecionada. Uma soma dos diâmetros (maior para lesões não nodais, eixo curto para lesões nodais)



para todas as lesões alvo é calculada e relatada como os diâmetros da soma da linha de base. Se os nódulos linfáticos forem incluídos na soma, apenas o eixo curto será adicionado à soma. Os diâmetros da soma da linha de base são usados como referência para caracterizar ainda mais qualquer regressão objetiva do tumor na dimensão mensurável da doença.

[000345] Lesões não alvo: Todas as outras lesões (ou sítios da doença) incluindo quaisquer lesões mensuráveis acima e além das 5 lesões alvo são identificadas como lesões não alvo e são registadas no início. As medidas dessas lesões não são necessárias, mas a presença, a ausência ou, em casos raros, a progressão inequívoca de cada uma é observada durante todo o acompanhamento.

#### Métodos para Avaliação de Doença Mensurável

[000346] Todas as medições são feitas e gravadas em notação métrica usando uma régua ou paquímetro. Todas as avaliações da linha de base são realizadas o mais próximo possível do início do tratamento e nunca mais de 4 semanas antes do início do tratamento. O mesmo método de avaliação e a mesma técnica devem ser usados para caracterizar cada lesão identificada e relatada no início e durante o acompanhamento. A avaliação à base de imagem é preferencial para a avaliação pelo exame clínico, a menos que a(s) lesão(ões) que está sendo acompanhada não possa ser visualizada, mas possa ser avaliada pelo exame clínico.

[000347] Lesões clínicas: As lesões clínicas só são consideradas mensuráveis quando são superficiais (por exemplo, nódulos da pele e nódulos linfáticos palpáveis) e diâmetro  $\geq 10$  mm ( $\geq 1$  cm), conforme avaliado por paquímetro (por exemplo, nódulos da pele). No caso de lesões cutâneas, recomenda-se a documentação por fotografia colorida, incluindo uma régua para estimar o tamanho da lesão.

[000348] Raio X de tórax: As lesões no raio X de tórax são aceitáveis

como lesões mensuráveis quando são claramente definidas e rodeadas por pulmão aerado. No entanto, CT é preferencial.

[000349] CT e MRI convencionais: Esta diretriz definiu a mensurabilidade das lesões em CT com base na suposição de que a espessura da fatia de CT é de 5 mm (0,5 cm) ou menor. Se as varreduras de CT tiverem uma espessura de fatia maior do que 5 mm (0,5 cm), o tamanho mínimo para uma lesão mensurável deve ser o dobro da espessura da fatia. A MRI também é aceitável em determinadas situações.

[000350] PET-CT: Se a CT realizada como parte de um PET-CT tiver qualidade diagnóstica idêntica a uma CT diagnóstica (com contraste IV e oral), então a porção CT do PET-CT pode ser usada para medições RECIST e pode ser usada de forma intercambiável com a CT convencional para medir com precisão as lesões do câncer ao longo do tempo.

[000351] Ultrassom: O ultrassom não é útil na avaliação do tamanho da lesão e não deve ser usado como método de medição. Se novas lesões forem identificadas por ultrassom no decorrer do estudo, a confirmação por CT ou MRI é recomendada. Se houver preocupação com a exposição a CT, a MRI pode ser usada em vez de CT em ocorrências selecionadas.

[000352] Endoscopia, Laparoscopia: A utilização destas técnicas para avaliação objetiva do tumor não é recomendada. No entanto, tais técnicas podem ser úteis para confirmar a resposta patológica completa quando biópsias são obtidas ou para determinar a recidiva em ensaios em que a recorrência após a resposta completa (CR) ou ressecção cirúrgica é um desfecho.

[000353] Marcadores tumorais: Marcadores tumorais isoladamente não podem ser usados para avaliar a resposta. Se os marcadores estiverem inicialmente acima do limite superior normal, eles devem

normalizar para que um paciente seja considerado em resposta clínica completa.

[000354] Citologia, Histologia: Estas técnicas podem ser usadas para diferenciar entre respostas parciais (PR) e respostas completas (CR) em casos raros (por exemplo, lesões residuais em tipos de tumor, tais como tumores de células germinativas, onde tumores benignos residuais conhecidos podem permanecer). A confirmação citológica da origem neoplásica de qualquer efusão que surja ou se agrave durante o tratamento quando o tumor mensurável atende aos critérios de resposta ou doença estável é obrigatória para diferenciar entre resposta ou doença estável (uma efusão pode ser um efeito colateral do tratamento) e doença progressiva.

[000355] FDG-PET: Embora as avaliações de resposta de FDG-PET precisem de estudo adicional, às vezes é razoável incorporar o uso de varredura de FDG-PET para complementar a varredura CT na avaliação da progressão (particularmente possível "nova" doença). Novas lesões com base na imagem de FDG-PET podem ser identificadas de acordo com o seguinte algoritmo: a. FDG-PET negativo no início do estudo, com um FDG-PET positivo no acompanhamento é um sinal de PD à base de uma nova lesão. b. Sem FDG-PET no início do estudo e um FDG-PET positivo no acompanhamento: Se o FDG-PET positivo no acompanhamento corresponder a um novo sítio de doença confirmado por CT, esta é PD. Se o FDG-PET positivo no acompanhamento não for confirmado como um novo sítio da doença em CT, varreduras CT de acompanhamento adicionais são necessárias para determinar se há verdadeira progressão ocorrendo naquele sítio (se assim for, a data de PD será a data da varredura inicial anormal de FDG-PET). Se o FDG-PET positivo no acompanhamento corresponder a um sítio de doença pré-existente em CT que não está progredindo com base nas imagens anatômicas, isso não é PD. c. O FDG-PET pode ser usado para

melhorar uma resposta a uma CR de maneira similar a uma biópsia em casos em que uma anormalidade radiográfica residual é considerada como representando fibrose ou cicatriz. O uso de FDG-PET nesta circunstância deveria ser descrito prospectivamente no protocolo e apoiado pela literatura médica específica da doença para a indicação. No entanto, deve-se reconhecer que ambas as abordagens podem levar a CR falso-positiva devido às limitações de FDG-PET e à resolução/sensibilidade da biópsia. Nota: Uma lesão de varredura de FDG-PET "positiva" significa uma que é FDG ávida com uma captação superior ao dobro do tecido circundante na imagem de atenuação corrigida.

#### Critérios de Resposta para Avaliação de Lesões Alvo

[000356] • Resposta Completa (CR): Desaparecimento de todas as lesões alvo. Qualquer nódulo linfático patológico (alvo ou não alvo) deve ter redução no eixo curto para  $< 10$  mm ( $< 1$  cm).

[000357] • Resposta Parcial (PR): Ao menos uma redução de 30% na soma dos diâmetros das lesões alvo, tomando como referência os diâmetros da soma da linha de base.

[000358] • Doença Progressiva (PD): Ao menos 20% de aumento na soma dos diâmetros das lesões alvo, tomando como referência a menor soma do estudo (isso inclui a soma da linha de base, se for a menor no estudo). Além do aumento relativo de 20%, a soma também deve demonstrar um aumento absoluto de ao menos 5 mm (0,5 cm). (Nota: o aparecimento de uma ou mais novas lesões também é considerado progressão).

[000359] • Doença Estável (SD): Nem encolhimento suficiente para se qualificar para PR nem aumento suficiente para se qualificar para PD, tomando como referência os menores diâmetros de soma enquanto estava em estudo.

### Crêterios de Resposta para Avalia o de Lesões Não Alvo

[000360] • Resposta Completa (CR): Desaparecimento de todas as lesões não alvo e normaliza o do nível de marcadores tumorais. Todos os nódulos linfáticos devem ser de tamanho não patológico (menor que 10 mm [ $< 1$  cm]). Nota: Se os marcadores tumorais estiverem inicialmente acima do limite superior normal, eles devem normalizar para que um paciente seja considerado em resposta clínica completa.

[000361] • Não CR/Não PD: Persistência de uma ou mais lesões não alvo e/ou manuten o do nível do marcador tumoral acima dos limites normais.

[000362] • Doença Progressiva (PD): Aparecimento de uma ou mais novas lesões e/ou progressão inequívoca de lesões não alvo existentes. A progressão inequívoca não deveria normalmente superar o estado da lesão alvo. Deve ser representativo da mudança geral do estado da doença, não de um único aumento da lesão.

### Crêterios de Resposta Imunorrelacionada

[000363] Os cr terios de resposta imunorrelacionada diferem de RECIST (Versão 1.1) onde a soma dos diâmetros mais longos de todas as lesões alvo e novas lesões, se houver, são usadas para determinar a resposta. A presença de novas lesões, por si só, não determina a progressão; a carga total do tumor é considerada.

### Avalia o de Lesões Alvo

[000364] • Resposta Completa (CR): Desaparecimento de todas as lesões alvo. Qualquer nódulo linfático patológico (alvo ou não alvo) deve ter redu o no eixo curto para  $< 10$  mm ( $< 1$  cm).

[000365] • Resposta Parcial (PR): Redu o de ao menos 30% na soma dos diâmetros das lesões alvo, incluindo novas lesões, tomando como referência os diâmetros da soma basal.

[000366] • Doença Progressiva (PD): Ao menos 20% de aumento na soma dos diâmetros das lesões alvo, incluindo novas lesões, tomando

como referência a menor soma do estudo (isso inclui a soma da linha de base se esta for a menor no estudo). Além do aumento relativo de 20%, a soma também deve demonstrar um aumento absoluto de ao menos 5 mm (0,5 cm).

[000367] • Doença estável (DS): Nem encolhimento suficiente para se qualificar para PR nem aumento suficiente para se qualificar para PD, tomando como referência os menores diâmetros de soma durante o estudo e incluindo as medidas de novas lesões.

#### Avaliação de lesões Não Alvo

[000368] • Resposta Completa (CR): Desaparecimento de todas as lesões não alvo e normalização do nível de marcadores tumorais. Todos os nódulos linfáticos devem ser de tamanho não patológico (menor do que 10 mm [ $< 1$  cm]). Nota: Se os marcadores tumorais estiverem inicialmente acima do limite superior normal, eles devem normalizar para que um paciente seja considerado em resposta clínica completa.

[000369] • Não CR/Não PD: Persistência de uma ou mais lesões não alvo e/ou manutenção do nível do marcador tumoral acima dos limites normais.

[000370] • Doença Progressiva (PD): Progressão inequívoca das lesões não alvo existentes. A progressão inequívoca não deve normalmente superar o estado da lesão alvo. Deve ser representativo da mudança geral do estado da doença, não de um único aumento da lesão. Embora uma progressão clara de lesões "não alvo" seja excepcional, a opinião do médico assistente deve prevalecer em tais circunstâncias, e o estado de progressão deve ser confirmado posteriormente.

#### Avaliação dos Critérios de Resposta Global

[000371] A melhor resposta global é a melhor resposta registrada desde o início do tratamento até à progressão/recorrência da doença (tomando como referência para a doença progressiva as menores

medições registadas desde o início do tratamento). A melhor atribuição de resposta do paciente dependerá da obtenção dos critérios de medição e confirmação. Critérios de avaliação de resposta revisados em tumores sólidos (RECIST) Versão 1.1 (Eisenhauer e outros 2009, Eur. J. Cancer 45: 228 a 247) e critérios de resposta imunorrelacionados (IrRC; Nishino e outros 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936 a 3943) estão resumidos nas Tabelas 10 e 11 abaixo.

**Tabela 10: Resposta de acordo com RECIST Revisado (Versão 1.1)**

Lesões alvo	Lesões não alvo	Novas Lesões	Resposta Global	Melhor Resposta Global quando a Confirmação é Exigida
CR	CR	Não	CR	≥ 4 semanas de confirmação
CR	Não CR/Não PD	Não	PR	≥ 4 semanas de confirmação
CR	Não avaliado	Não	PR	≥ 4 semanas de confirmação
PR	Não CR/Não PD/não avaliado	Não	PR	≥ 4 semanas de confirmação
SD	Não CR/Não PD/não avaliado	Não	SD	Documentado ao menos uma vez ≥ 4 semanas a partir do início
PD	Qualquer	Sim ou Não	PD	Não antes de SD, PR ou CR
Qualquer	PD	Sim ou Não	PD	Não antes de SD, PR ou CR
Qualquer	Qualquer	Sim	PD	Não antes de SD, PR ou CR

CR: resposta completa; PD: doença progressiva; PR: resposta parcial; SD: doença estável

**Tabela 11: Avaliação dos Critérios de Resposta Imunorrelacionados**

Lesões alvo	Lesões não alvo	Novas Lesões	Resposta Global	Melhor Resposta Global quando a Confirmação é Exigida
CR	CR	Não	CR	≥ 4 semanas de confirmação
CR	Não CR/Não PD	Não	PR	≥ 4 semanas de confirmação
CR	Não avaliado	Não	PR	≥ 4 semanas de confirmação
PR	Não CR/Não PD/não avaliado	Sim ou Não	PR	≥ 4 semanas de confirmação
SD	Não CR/Não PD/não avaliado	Sim ou Não	SD	Documentado ao menos uma vez ≥ 4 semanas a partir do início
PD	Qualquer	Sim ou Não	PD	Não antes de SD, PR ou CR
Qualquer	PD	Sim ou Não	PD	Não antes de SD, PR ou CR

CR: resposta completa; PD: doença progressiva; PR: resposta parcial; SD: doença estável



### Avaliação de Lesões Alvo Irradiadas

[000372] As lesões alvo irradiadas são avaliadas com uma versão modificada dos critérios internacionais propostos pelo Comitê de Critérios de Avaliação da Resposta em Tumores Sólidos (RECIST), versão 1.1. Definições adicionais além das diretrizes RECIST 1.1 específicas para este protocolo são incorporadas para definir o controle local.

[000373] Os critérios de resposta para lesões irradiadas são os seguintes:

[000374] Ampliação local (LE): Ao menos 20% de aumento no LD da lesão alvo, tomando como referência o menor LD registrado desde o início do tratamento. Idealmente, essa determinação será feita com base na avaliação de imagens de CT.

[000375] Falha local (LF): Se refere ao tumor primário tratado após a terapia de protocolo e corresponde ao cumprimento de ambos os dois seguintes critérios: (1) aumento na dimensão do tumor de 20% como definido acima para o aumento local (LE); (2) O tumor mensurável com critérios que atendam ao LE deve ser ávido na tomografia por emissão de pósitrons (PET) com captação de intensidade semelhante à PET do pré-tratamento, ou o tumor mensurável deveria ser biopsiado confirmando o carcinoma viável.

[000376] Controle local (LC): A ausência de falha local.

[000377] O diâmetro mais longo (LD) para a lesão alvo irradiada calculado a partir varredura CT de planejamento do tratamento, usando janelas apropriadas tecido-específicas, é relatado como o LD da linha de base. O LD de linha de base é usado como referência para caracterizar o tumor objetivo. Para avaliação de acompanhamento, varreduras CT diagnósticas realizadas usando um algoritmo de reconstrução contígua de 5 mm usando janelas pulmonares, tomadas como parte do acompanhamento de protocolo programado, são

preferenciais como o método de avaliação de resposta. Quando varreduras CT não estiverem disponíveis, a determinação por MRI ou raio X é permitida, desde que a lesão alvo seja claramente visível.

### Resultados

[000378] REGN2810 isoladamente e em combinação é seguro e bem tolerado pelos pacientes. A administração de REGN2810 isoladamente ou em combinação com outras modalidades de tratamento inibe o crescimento do tumor e/ou promove a regressão do tumor em pacientes com tumores sólidos avançados. A taxa de resposta global é melhor para a terapia de combinação com radiação em comparação com a monoterapia.

[000379] Sessenta (60) pacientes com malignidades sólidas avançadas (47% com quatro ou mais terapias anteriores) foram tratados até a data. As malignidades sólidas avançadas incluem câncer colorretal, câncer de cabeça e pescoço, câncer de mama, sarcoma de partes moles, câncer adrenal, câncer anal, câncer do apêndice, câncer de bexiga, câncer cervical, câncer de endométrio, câncer de esôfago, câncer de fígado, adenocarcinoma do pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, câncer de pâncreas, câncer de próstata, sarcomatoide renal, câncer de glândula salivar, câncer de pele não melanoma, carcinoma de células Merkel, carcinoma de células escamosas, carcinoma basocelular, câncer de intestino delgado, câncer de tireoide e câncer uterino.

[000380] Quarenta e dois pacientes (70%) sofreram um ou mais eventos adversos relacionados ao tratamento (AEs). Os AEs relacionados ao tratamento mais comuns foram fadiga (28,3%), artralgia (11,7%) e náusea (11,7%). Dos 60 pacientes avaliados para respostas tumorais, houve 11 (18,3%) respostas objetivas (PR/CR), enquanto 31 pacientes (51,7%) apresentaram controle da doença (CR/PR/SD). Nos 36 pacientes que receberam terapia de combinação, incluindo

radioterapia, a resposta objetiva foi observada em 6 pacientes (16,7%) e o controle da doença em 19 pacientes (52,8%). Nos 24 pacientes que não receberam radioterapia, a resposta objetiva foi observada em cinco pacientes (20,8%) e o controle da doença foi observado em 12 pacientes (50%). A Tabela 12 mostra um resumo dos respondedores.

**Tabela 12: Resumo dos respondedores**

ID do indivíduo	Coorte de dose	Tipo de câncer	No. de linhas de terapia anteriores	Melhor Resposta	Melhor % de Redução
41	R2810: 1 mg/kg	Colangiocarcinoma	5	PR	-41,2
50	R2810: 1 mg/kg	Carcinoma de células escamosas cutâneas	2	CR	-100,0
43	R2810: 10 mg/kg	Sarcoma de partes moles	5	PR	-49,1
37	R2810: 10 mg/kg	Carcinoma basocelular	1	PR	-36,7
36	R2810: 3 mg/kg + CPA: 200 mg/m <sup>2</sup>	Sarcoma de partes moles	5	PR	-33,3
47	R2810: 1 mg/kg + XRT: 6 Gy x 5	Carcinoma de células escamosas do colo do útero	4	PR	-66,7
46	R2810: 1 mg/kg + XRT: 9 Gy x 3	Carcinoma de células escamosas anais	3	PR	-57,1
49	R2810: 1 mg/kg + XRT: 9 Gy x 3	Carcinoma de células escamosas do colo do útero	3	CR	-100,0
48	R2810: 3 mg/kg + XRT: 6 Gy x 5	Carcinoma de células de Merkel	1	PR	-72,5
42	R2810: 3 mg/kg + XRT: 6 Gy x 5	Adenocarcinoma do intestino delgado	2	PR	-46,7
44	R2810: 3 mg/kg + XRT: 9 Gy x 3	Carcinoma seroso do ovário	6	PR	-52,4

[000381] Dentre os respondedores, o tempo médio de resposta para a monoterapia foi de 113 dias (intervalo 52-226) e para pacientes com radioterapia foi de 59 dias (intervalo 56-113).

Exemplo 8: Relatos de casos de bloqueio de PD-1 com o anticorpo monoclonal REGN2810 atingindo respostas objetivas duráveis em cânceres da pele não melanoma metastáticos: Carcinoma basocelular e Carcinoma de células escamosas cutâneas

### Introdução

[000382] O carcinoma basocelular (BCC) e o carcinoma de células escamosas cutâneas (CSCC) compartilham a exposição à luz UV como fator de risco dominante, e esses tumores são, portanto, hipermutados (Chalmers e outros 2016, AACR Ann. Meeting, Abs 3576). Em outras malignidades, a elevada carga de mutação foi associada a benefício clínico da terapia com anticorpos dirigidos contra a via de sinalização imune a PD-1 [Le e outros 2015, New Engl. J. Med. 30 de maio (Epub ahead of print)]. Tumores altamente mutados são mais propensos a expressar neoantígenos tumorais imunogênicos que atraem células T efetoras que podem ser desencadeadas pelo bloqueio da via de sinalização imune a PD-1 (Mandal e Chan 2016, Cancer Discov. 6: 1 a 12). Este Exemplo descreve um paciente com BCC metastático e um paciente com CSCC metastático que foram tratados com REGN2810, um anticorpo monoclonal anti-PD-1 totalmente humano, em um ensaio de fase 1 em andamento (NCT02383212; descrito no Exemplo 7).

### Relato de Caso 1

[000383] A paciente era uma mulher de 66 anos que foi diagnosticada com um BCC estágio 1 surgindo no aspecto esquerdo do queixo, que foi ressecionado com a cirurgia de Mohs. Uma recorrência localizada no mesmo local foi identificada 2 anos depois, e uma ampla excisão local revelou invasão na mandíbula esquerda e envolvimento de um dos 18 nódulos linfáticos. A paciente recebeu radiação adjuvante e permaneceu em remissão por 4 anos, quando os nódulos pulmonares aumentados observados na imagem de tórax de vigilância foram biopsiados e confirmaram a presença de BCC metastático.

Subsequentemente, o paciente recebeu o inibidor da via de sinalização Hedgehog (HHI), vismodegib, durante 5 meses. Ela inicialmente respondeu, mas interrompeu por causa da doença progressiva.

[000384] Seis meses após a terapia com vismodegib e após progressão lenta continuada, o paciente se inscreveu no estudo de fase 1 de REGN2810 para uma coorte que recebeu 10 mg/kg IV a cada 2 semanas e recebeu sua primeira dose. Duas metástases pulmonares foram seguidas como lesões alvo. Avaliações de resposta no final de 8 semanas (aumento de 3%) e 16 semanas (redução de 10%) demonstraram doença estável pelos critérios RECIST. A avaliação da resposta no final de 24 semanas demonstrou uma redução nas medidas tumorais de 37% (Figura 14A), e isso foi confirmado em 32 semanas. A paciente tolerou bem o tratamento e continua o REGN2810, em tratamento por mais de 10 meses.

### Relato de Caso 2

[000385] O paciente era um homem de 52 anos que foi diagnosticado com carcinoma de células escamosas cutâneas na bochecha esquerda. Ele foi submetido à cirurgia de Mohs com margens claras. Ele sofreu múltiplas recidivas e foi submetido a ao menos 9 cirurgias de Mohs adicionais. Ele foi submetido à ampla excisão local sobre a mandíbula esquerda quatro anos depois, e deixou a parotidectomia posteriormente em 20 meses. Além disso, radioterapia adjuvante foi administrada na bochecha esquerda, na mandíbula esquerda, no pescoço esquerdo (com cetuximabe concomitante) e no pescoço bilateral (com carboplatina concomitante). Outras terapias sistêmicas foram capecitabina e cisplatina + docetaxel. Dez anos após o diagnóstico inicial, ele foi submetido à excisão com margens claras para uma recidiva de 2,2 cm na cicatriz do pescoço esquerdo. Posteriormente, CSCC invasivo em corpos vertebrais C4-C5 precisou de descompressão emergente da medula espinhal cervical com

corpectomia anterior em C4-C5 e laminectomia posterior em C4-C6. Ele também desenvolveu fraqueza muscular nas extremidades inferiores, que se acredita ser devido ao envolvimento perineural e exigiu o uso de um andador para deambulação.

[000386] Ele foi inscrito no estudo de fase 1 na primeira coorte, recebendo 1 mg/kg de REGN2810 a cada duas semanas. Algumas semanas após o início do tratamento, a força da extremidade inferior retornou gradualmente e ele não precisou mais usar o andador. A resposta na semana 16 é mostrada na Figura 14B. A resposta radiológica completa da lesão cervical esquerda foi alcançada na semana 40. O paciente completou as 48 semanas planejadas de tratamento protocolar com REGN2810. Ele continua em acompanhamento ativo com seu médico oncologista sem evidência clínica ou radiográfica de recorrência da doença.

#### Discussão

[000387] Este exemplo descreve a primeira resposta parcial confirmada em um paciente com BCC metastático tratado com um inibidor de PD-1 (REGN2810), bem como uma resposta completa durável completa em um paciente com CSCC metastático. As respostas profundas e sustentadas desses pacientes pré-tratados para monoterapia com anti-PD-1 neste estudo de fase 1 são consistentes com a hipótese de que alta carga de mutação no BCC e no CSCC provocaria imunidade celular antitumoral que poderia ser desencadeada pelo bloqueio do caminho da vida de sinalização de PD-1/PD-L1.

[000388] Este exemplo suporta um princípio geral que os cânceres de pele associados a UV, além de melanoma, são sensíveis ao bloqueio de PD-1. Um modelo reducionista poderia prever que os tumores associados a UV com maior carga de mutações não sinônimas serão mais responsivos ao bloqueio de PD-1 do que aqueles com menor carga de mutação.

Exemplo 9: Segurança e eficácia do anticorpo anti-PD-1 em pacientes com carcinoma de células escamosas cutâneas (CSCC) localmente avançado ou metastático não resseccionável

#### Antecedentes

[000389] Não existe um padrão estabelecido de cuidados para CSCC metastático ou avançado localmente não resseccionável. Devido aos danos no DNA induzidos por UV, a maioria dos CSCCs é hipermutada. Portanto, esses tumores podem ser responsivos ao bloqueio da via de sinalização de PD-1. Este Exemplo descreve pacientes com CSCC metastático ou localmente avançado que foram tratados com REGN2810, um anticorpo monoclonal anti-PD-1 totalmente humano em um ensaio de fase 1 em andamento (NCT02383212; descrito no Exemplo 7 aqui).

#### Métodos

[000390] As coortes de expansão (ECs) no estudo de fase 1 de REGN2810 envolveram pacientes com CSCC distalmente metastático (EC 7) e CSCC localmente avançado (EC8) (Tabela 9). Todos os pacientes receberam 3 mg/kg de REGN2810 por veia a cada 2 semanas por até 48 semanas. Biópsias de pesquisa foram realizadas no início e no dia 29 (e na progressão, se possível). Para determinar a taxa de resposta global, as medições do tumor foram realizadas a cada 8 semanas de acordo com RECIST 1.1.

#### Resultados

[000391] Vinte e cinco (25) pacientes foram incluídos (10 em EC 7 e 15 em EC 8): idade mediana, 72,5 anos (variação: 56 a 88 anos); PS mediana 1 (intervalo, 0 a 1); 20 M: 5F; número médio de regimes prévios de terapia sistêmica, 1 (variação de 0 a 3). A exposição mediana ao REGN2810 foi de 6 doses (intervalo de 1 a 22). Os eventos adversos mais comuns relacionados ao tratamento de qualquer série foram fadiga (16,7%), náusea, artralgia e erupção cutânea (8,3% cada). Cada um dos



seguintes eventos adversos (AEs) relacionados  $\geq$  Grau 3 ocorreu uma vez: elevação da AST, elevação da ALT, artralgia e erupção cutânea.

[000392] A taxa de resposta global (uPR + PR + CR) e a taxa de controle da doença (ORR + SD) foram de 48% (11/23; 3uPR, 5 PR, 2CR, 1 de CR) e 70% (16/23, incluindo 5 SD), respectivamente. Dois pacientes ainda não foram avaliados. PFS Mediana e OS Mediana são calculadas, e apenas um paciente experimentou PD durante o tratamento com REGN2810 após a resposta inicial. Estudos correlacionados com a ciência estão em andamento, incluindo o sequenciamento de exoma completo do tumor.

#### Conclusão

[000393] REGN2810 demonstra atividade antitumoral robusta em pacientes com CSCC avançado.

Exemplo 10: Ensaio clínico do anticorpo anti-PD-1 combinado com radioterapia hipofracionada versus padrão de cuidados em pacientes  $\geq$  65 anos de idade com glioblastoma recém-diagnosticado

#### Introdução

[000394] O glioblastoma é uma doença mortal com uma sobrevida mediana de aproximadamente 16 meses em pacientes recém-diagnosticados (rnGBM) e aproximadamente 9 meses no cenário recorrente (rGBM) (Friedman e outros, 2009, J. Clin. Oncol. 27: 4733 a 4740). O padrão atual de tratamento para pacientes com glioblastoma recém-diagnosticado é a radiação (60 Gy durante 6 semanas) com temozolomida concomitante (TMZ) seguida por temozolomida adjuvante (Stupp e outros, 2005, N. Engl. J. Med. 352: 987 a 996), embora análises de subgrupos sugiram que a adição de temozolomida pode não melhorar a eficácia em indivíduos mais velhos (Laperriere e outros, 2013, Cancer Treat. Rev. 39: 350 a 357).

[000395] Este Exemplo descreve um estudo de fase 3 para avaliar a eficácia de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com a radioterapia

hipofracionada (hfRT) versus padrão de cuidados (SoC) em termos de sobrevida geral em pacientes  $\geq 65$  anos de idade com nGBM.

[000396] O anticorpo anti-PD-1 exemplificativo utilizado neste estudo é o REGN2810 (também conhecido como H4H7798N como descrito em US20150203579), um anticorpo monoclonal anti-PD-1 totalmente humano compreendendo uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 9 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10; um par de sequências de aminoácidos de HCVR/LCVR compreendendo SEQ ID NOs: 1/2; e sequências de CDR de cadeia pesada e de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 3-8.

#### Objetivos do Estudo

[000397] O objetivo primário do estudo é avaliar a eficácia em termos de sobrevida geral (OS) de REGN2810 administrado em combinação com hfRT versus padrão de cuidados para pacientes com idade igual ou superior a 65 anos com nGBM.

[000398] O objetivo secundário do estudo é determinar uma melhora na sobrevida livre de progressão (PFS).

[000399] Os outros objetivos do estudo são: (i) melhoria na taxa de resposta objetiva (ORR), duração da resposta e duração do controle da doença; (ii) avaliação clínica utilizando a escala Neurologic Assessment in Neuro-Oncology (NANO); (iii) segurança; (iv) melhoria na qualidade de vida (QoL) e estado mental; (v) alterações no edema e uso de esteroides; (vi) concentração de REGN2810 em anticorpos séricos e anti-REGN2810; e (vii) explorar potenciais biomarcadores farmacodinâmicos, preditivos ou prognósticos.

#### Modelo de Estudo

[000400] Este é um estudo randomizado 2:1 de fase 3 de REGN2810, um anticorpo totalmente humano para PD-1, combinado com radioterapia hipofracionada versus padrão de cuidados em pacientes

com 65 anos de idade com glioblastoma recém-diagnosticado. Os pacientes são randomizados para REGN2810 em combinação com radioterapia hipofracionada versus padrão de tratamento em uma relação de 2:1 com estado de metilação (metilado vs. não metilado vs. indeterminado) e extensão da ressecção (ressecção parcial versus total bruto) como fatores de estratificação. A eficácia é avaliada pela sobrevida geral.

[000401] Os pacientes nGBM que são candidatos à radioterapia são randomizados em uma relação de 2:1 para receber um dos seguintes tratamentos:

[000402] • Terapia investigacional: 3 mg/kg de REGN2810 IV (a cada 2 semanas) mais RT hipofracionada (6 Gy X 5, segunda semana apenas). A radioterapia é fornecida na segunda semana do ciclo 1, mas não em ciclos subsequentes.

[000403] • Terapia comparativa: padrão de tratamento TMZ (oral, 75 mg/m<sup>2</sup>, diariamente) em combinação com RT padrão (5 frações diárias de radiação/semana de 2 Gy) por 6 semanas, seguido de TMZ adjuvante (oral, 150 mg/m<sup>2</sup> a 200 mg/m<sup>2</sup> 5 dias/28 dias) durante 6 ciclos. A radioterapia é fornecida apenas no primeiro ciclo de 6 semanas.

#### Duração do estudo

[000404] O estudo consiste em um período de triagem de 28 dias, após o qual os pacientes elegíveis podem ter até doze ciclos de tratamento de 56 dias (8 semanas) para um total de até 96 semanas de tratamento. Durante o período de triagem (dia -28 a dia -1), todos os pacientes elegíveis devem ter uma ressecção do tumor pré-tratamento disponível (ressecção parcial ou total) ou biópsia para confirmação da patologia central e determinação e confirmação da metilação MGMT.

[000405] Após o dia 1/início do tratamento, os pacientes retornam à clínica durante o ciclo 1 nos dias 8 ± 3, 15 ± 3, 29 ± 3, 43 ± 3 e 56 ± 3. Para cada ciclo subsequente de 8 semanas (ciclos 2 a 12), os pacientes

retornam à clínica nos dias 1,  $15 \pm 3$ ,  $29 \pm 3$ ,  $43 \pm 3$  e  $56 \pm 3$ . As avaliações tumorais (MRI do cérebro, avaliações iRANO e NANO, questionários MMSE e EORTC QLQ-C30/BN20) são feitas no dia 1/início do tratamento e no final de cada ciclo de tratamento. Avaliações extensas de segurança ocorrem no dia 1 de cada ciclo; avaliações de segurança de rotina serão realizadas em cada visita. Amostras para avaliação de biomarcadores (celulares e moleculares, aqui descritos) relacionadas à exposição ao tratamento com REGN2810, atividade clínica ou doença subjacente também são coletadas.

[000406] Durante o período de acompanhamento de 24 semanas, os pacientes retornam à clínica 21 a 42 dias após o último tratamento do estudo para a primeira consulta de acompanhamento. Visitas subsequentes de acompanhamento (visita de acompanhamento 2 até a visita de acompanhamento 7) ocorrem a cada  $28 \text{ dias} \pm 7 \text{ dias}$ . As avaliações de tumor (MRI do cérebro, avaliações iRANO e NANO, questionários MMSE e EORTC QLQ-C30/BN20) são feitas na visita de acompanhamento 3, visita de acompanhamento 5 e visita de acompanhamento 7. Extensas avaliações de segurança ocorrem durante a primeira visita de acompanhamento; avaliações de segurança de rotina serão conduzidas em visitas subsequentes de acompanhamento. Amostras para avaliação de biomarcadores (celulares e moleculares, aqui descritos) relacionados à exposição ao tratamento com REGN2810, atividade clínica ou doença subjacente são coletadas.

#### População Alvo

[000407] A população alvo compreende pacientes com 65 anos de idade com nGBM.

[000408] Critério de Inclusão: Um paciente deve preencher os seguintes critérios para ser elegível para inclusão no estudo: (1) glioblastoma primário recém-diagnosticado com confirmação histológica,  $\leq 5 \text{ cm}$  de diâmetro máximo, que teve ressecção cirúrgica

parcial ou completa; (2) estado de desempenho do Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 0-2; (3)  $\geq 65$  anos de idade; (4) função hepática: (a) bilirrubina total  $\leq 1,5$  x limite superior do normal; (b) ALT e AST  $\leq 3$  x ULN; c) Fosfatase alcalina (ALP)  $\leq 2,5$  x ULN; (5) Função renal: creatinina sérica  $\leq 1,5$  x ULN; (6) Função da medula óssea: hemoglobina  $\geq 9,0$  g/dL; Contagem absoluta de neutrófilos (CAN)  $\geq 1,5$  x  $10^9/L$ ; Contagem de plaquetas  $\geq 75$  x  $10^9/L$ ; (7) Capaz de ler, entender e querer assinar a ICF; e (8) Capacidade e disposição para cumprir as visitas programadas, os planos de tratamento, os exames laboratoriais e outros procedimentos relacionados ao estudo.

[000409] Critério de Exclusão: Um paciente que preenche algum dos seguintes critérios será excluído do estudo: (1) Qualquer tratamento anterior para GBM (exceto cirurgia); (2) Ter contraindicação conhecida para a Gd-MRI; (3) Evidências contínuas ou recentes (dentro de 5 anos) de doença autoimune significativa que exigiram tratamento com tratamentos imunossupressores sistêmicos, o que pode sugerir risco para eventos adversos relacionados ao sistema imune (irAEs). Os seguintes não são excludentes: vitiligo, asma infantil resolvida, hipotireoidismo residual que requer apenas reposição hormonal ou psoríase que não requer tratamento sistêmico. (4) Tratamento sistêmico com corticosteroides, com exceção do uso de corticosteroides para outros (não tumorais e não imunossupressores) até um máximo de 10 mg/dia de prednisona ou equivalente. (5) Tumores primários localizados no tronco encefálico, medula espinhal ou qualquer infecção ativa secundária ao tumor cerebral que precise de terapia, incluindo infecção conhecida pelo vírus da imunodeficiência humana ou infecção ativa pelo vírus da hepatite B ou da hepatite C. (6) Histórico de pneumonia nos últimos 5 anos. (7) Qualquer tratamento experimental ou antitumoral nos 30 dias anteriores à administração inicial de REGN2810. (8) Histórico de reações alérgicas documentadas ou reação de hipersensibilidade

aguda atribuída ao tratamento com terapias de anticorpos em geral, ou a agentes especificamente utilizados no estudo. (9) Hipertensão inadequadamente controlada (definida como pressão arterial sistólica > 150 mmHg e/ou pressão arterial diastólica > 100 mmHg) (10) Alergia conhecida à doxiciclina ou à tetraciclina. (Precaução devido à presença de componentes vestigiais no REGN2810.) (11) Histórico prévio de crise de hipoxia ou encefalopatia hipertensiva (12) Histórico nos últimos 5 anos de uma neoplasia invasiva que não seja a tratada neste estudo, com exceção de carcinoma basocelular ou de células escamosas resseccionado/ablado da pele ou carcinoma in situ do colo do útero, ou outros tumores locais considerados curados por tratamento local. (13) Problemas psiquiátricos agudos ou crônicos que, sob a avaliação do investigador, tornam o paciente inelegível para participação, (14) Uso de Campos de Tratamento de Tumores Novocure (dispositivo Optune NovoTTF-100A) na triagem. Uso planejado ou antecipado de Campos de Tratamento de Tumores Novocure durante a participação no estudo, (15) Tratamento prévio com bolachas de carmustina, (16) Atividade sexual continuada em homens que não estão dispostos a praticar contracepção adequada durante o estudo.

#### Tratamentos de Estudo

[000410] Os pacientes recebem um dos seguintes regimes de tratamento:

[000411] Terapia de investigação: 3 mg/kg de REGN2810 (administrado por infusão IV durante 30 minutos a cada 2 semanas por até 96 semanas) mais hfRT na segunda semana do ciclo 1.

[000412] Comparador: padrão de cuidado TMZ (oral, 75 mg/m<sup>2</sup>, diariamente) em combinação com RT padrão (5 frações diárias de radiação/semana de 2 Gy) por 6 semanas, seguido por TMZ adjuvante (oral, 150 mg/m<sup>2</sup> para 200 mg/m<sup>2</sup> 5 dias/28 dias) durante 6 ciclos. A radioterapia é fornecida apenas no primeiro ciclo.

[000413] O REGN2810 é fornecido como um líquido em frascos estéreis de uso único. Cada frasco contém um volume suficiente para retirar 10 mL de REGN2810 a uma concentração de 25 mg/mL. O REGN2810 é administrado como uma infusão IV de 30 minutos. A dose de cada paciente dependerá do peso corporal individual. A dose de REGN2810 deve ser ajustada em cada ciclo para alterações no peso corporal de  $\geq 10\%$ .

[000414] Radioterapia: Pacientes no braço controle recebem radioterapia padrão (60 Gy por 6 semanas). Os pacientes do grupo de tratamento experimental recebem hfRT (frações diárias de 6 Gy X 5) administradas 1 semana após a primeira dose de REGN2810.

[000415] REGN2810 mais radiação (tratamento investigacional): O REGN2810 é administrado por infusão IV durante 30 minutos a cada 14 dias durante 96 semanas em combinação com hfRT desde o dia 8 ao dia 12.

[000416] Regime de combinação planejada de REGN2810 e hfRT: 3 mg/kg de infusão de REGN2810 durante 30 minutos a cada 14 dias durante 96 semanas mais radioterapia (hfRT com frações diárias de 6 Gy x; administrada 1 semana após a primeira dose de REGN2810, de preferência em dias consecutivos).

[000417] Especificações para radioterapia: Os pacientes recebem 30 Gy dados como 5 frações de 6 Gy administrados diariamente, começando 1 semana após a primeira dose de REGN2810.

[000418] Braço Comparador: Padrão de Cuidados: TMZ (oral, 75 mg/m<sup>2</sup>, diariamente) em combinação com RT padrão (5 frações diárias de radiação/semana de 2 Gy) por 6 semanas, seguido por TMZ oral adjuvante. A dose de TMZ é de 150 mg/m<sup>2</sup> durante os primeiros 5 dias do primeiro ciclo de adjuvante e é aumentada 200 mg/m<sup>2</sup> durante 5 dias/28 dias a partir do segundo ciclo se não houver toxicidades hematológicas inaceitáveis com o primeiro ciclo de adjuvante.

[000419] Se, durante o primeiro ciclo adjuvante, todas as toxicidades não hematológicas observadas forem de grau  $\leq 2$  (exceto alopecia, náusea e vômito) e plaquetas forem  $\geq 100 \times 10^9/L$  e CNA  $\geq 1,5 \times 10^9/L$ , então a dose de TMZ deve ser aumentada para o nível de dose 1 (200 mg/m<sup>2</sup>) e esta dose deve ser usada como a dose inicial para ciclos subsequentes. Se, após o ciclo 1, TMZ tiver que ser retardado devido a toxicidades não hematológicas contínuas de grau  $\geq 2$ , então não será possível o escalonamento. Se a dose não foi escalonada no segundo ciclo, a dose não deve ser escalonada nos ciclos subsequentes.

[000420] Tratamentos para o Edema do SNC: Qualquer paciente que desenvolva edema intracraniano sintomático durante o estudo tem dosagem de REGN2810 e radioterapia mantida até o desaparecimento do edema.

[000421] Para pacientes que desenvolvem edema intracraniano, o bevacizumab é administrado IV, conforme necessário (PRN), a uma dose reduzida do padrão (dose sugerida de 5 mg/kg de Q2W para até 3 doses, não mais de 10 mg/kg Q2W por dose), a menos que seja contraindicado (por exemplo, a menos que o paciente tenha feito uma cirurgia nos últimos 28 dias).

[000422] Se o bevacizumab não resolver o edema intracraniano, podem ser administrados corticosteroides sistêmicos, em adição ou como substituto do bevacizumab, na dose mais baixa indicada para o tratamento dos sintomas. Para pacientes que são intolerantes a corticosteroides, os corticosteroides são usados em doses definidas para serem apropriadas para o gerenciamento dos sintomas.

#### Variáveis de Estudo

[000423] O objetivo primário de eficácia é a sobrevida geral (OS), que é definida como o intervalo de tempo desde a data de randomização até à data da morte devido a qualquer causa.

[000424] O desfecho secundário chave é a sobrevida livre de



progressão (PFS), que é definida como o intervalo de tempo a partir da data da randomização até a data da primeira observação da progressão da doença ou a data do óbito (devido a qualquer causa). A progressão da doença é determinada pelos critérios iRANO.

[000425] Os outros desfechos de eficácia secundários são:

[000426] Taxa de resposta objetiva (ORR): definida como a proporção de pacientes com resposta completa confirmada (CR) ou resposta parcial confirmada (PR), definida pelos critérios de Avaliação da Resposta à Imunoterapia em Neuro-Oncologia (iRANO) relativos ao número total de pacientes na população de análise.

[000427] Duração da resposta: determinada para pacientes com melhor resposta global de CR ou PR. A duração da resposta é medida a partir do momento em que os critérios de medição de tempo são atendidos para CR/PR (o que for registrado pela primeira vez) até a primeira data da doença recorrente ou progressiva (radiográfica), ou morte por qualquer causa.

[000428] Duração de controle da doença: determinada para pacientes com a melhor resposta global de SD, CR ou PR. A duração de controle da doença é medida desde o início do tratamento até a primeira data da doença recorrente ou progressiva (radiográfica), ou morte por qualquer causa.

[000429] Variáveis de Qualidade de Vida e de Controle de Sintomas: As variáveis de qualidade de vida e controle de sintomas são:

[000430] • Cinco escalas funcionais, três escalas de sintomas, uma medida global do estado de saúde e seis escalas de item único que avaliam os sintomas usando os questionários EORTC QLQ-C30 durante o estudo.

[000431] • Quatro escalas e sete itens únicos usando os questionários EORTC QLQ-BN20 durante o estudo.

[000432] • Avaliação clínica usando NANO.

- [000433] • O escore total do MEEM durante o estudo.
- [000434] • Uso de corticosteroide no início do estudo, uso cumulativo de corticosteroides durante o estudo e duração do uso sem esteroides ou em baixas doses de esteroides durante o período de estudo livre de progressão.
- [000435] • Uso de PRN bevacizumab no início do estudo, PRN bevacizumab cumulativo durante o estudo, e a duração de ausência de bevacizumab durante o período de estudo sem progressão.
- [000436] Variáveis Exploratórias de Biomarcador: Outro desfecho inclui biomarcadores farmacodinâmicos, prognósticos e preditivos relacionados à resposta clínica, mecanismo de ação, e possíveis AEs associados ao REGN2810 após o tratamento. As variáveis de biomarcador incluem:
  - [000437] • Níveis de expressão dos receptores de via de sinalização imune a PD-L1, GITR e LAG3, bem como outros biomarcadores potenciais (por exemplo, EGFRvIII, Ki67, etc.) em amostras de tumores;
  - [000438] • Número e distribuição de TILs em amostras de tumores;
  - [000439] • Estado mutacional de IDH1, instabilidade de microssatélites (MSI) e carga mutacional em amostras tumorais;
  - [000440] • Biomarcadores circulantes incluindo citocinas e fatores angiogênicos;
  - [000441] • Subconjuntos de células e níveis de expressão de biomarcadores de interesse em PBMCs;
  - [000442] • Estado de metilação do promotor MGMT (também usado para estratificação)
- [000443] Outras variáveis incluem a concentração de REGN2810 no soro (variáveis farmacocinéticas) e o desenvolvimento de anticorpos anti-REGN2810.

### Procedimentos e Avaliações

[000444] Após um período de triagem de até 28 dias, os pacientes recebem até doze ciclos de tratamento de 56 dias para um total de até 96 semanas de tratamento, seguido por um período de acompanhamento de 24 semanas. Eficácia, segurança, PK, ADA e análise exploratória de biomarcadores são realizadas.

### Procedimentos de Eficácia

[000445] MRI: Uma MRI para avaliação do tumor é realizada 72 horas após a cirurgia, na visita de triagem (nos 28 dias anteriores à infusão), no dia  $56 \pm 3$  de cada ciclo (aproximadamente a cada 8 semanas) e quando PD é suspeito. Os pacientes para os quais a doença não progrediu realizam avaliações adicionais do tumor nas visitas de acompanhamento 3, 5 e 7. Observação: se a doença pulmonar foi confirmada, exames adicionais não serão necessários durante as visitas de acompanhamento. Se MRIs pré- e pós-cirurgia foram realizadas antes da inscrição no estudo, esses exames também devem ser submetidos ao estudo para auxiliar na determinação do volume do tumor e progressão do tumor.

[000446] A avaliação da resposta tumoral é realizada de acordo com iRANO; e avaliação neurológica clínica será realizada por NANO. Avaliações de acordo com RANO também são realizadas como uma exploração de suporte; entretanto, a determinação primária da progressão da doença para um paciente individual é feita de acordo com iRANO.

[000447] O Questionário da Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento da Qualidade de Vida de Câncer (EORTC QLQ-C30) e o Questionário do Módulo de Câncer do Cérebro EORTC (EORTC QLQ-BN20): O EORTC QLQ-C30 é um questionário de 30 itens que avalia a qualidade de vida relacionada à saúde (HRQoL) em pacientes com câncer, com 15 escalas (único ou multi-item), cada uma com possíveis

escores variando de 0 a 100. Dos 30 itens, 24 agregam em 9 escalas multi-item representando várias dimensões de HRQoL: 5 escalas de funcionamento (físico, função, emocional, cognitivo e social), 3 escalas de sintomas (fadiga, dor e náuseas), e 1 medida global do estado de saúde. As 6 escalas de item único restantes avaliam sintomas: dispneia, perda de apetite, distúrbios do sono, constipação e diarreia, e o impacto financeiro percebido do tratamento da doença. Escores altos indicam melhor HRQoL para a medida global do estado de saúde e escalas de funcionamento, e pior HRQoL para as escalas de sintomas.

[000448] O EORTC QLQ-BN20 é uma avaliação de QoL de 20 itens específica para neoplasias cerebrais e destina-se a complementar o EORTC QLQ-C30 ao avaliar a qualidade de vida relacionada à saúde. O questionário EORTC QLQ-BN20 avalia os sintomas da doença, os efeitos colaterais do tratamento e algumas questões psicossociais de importância para pacientes com câncer no cérebro usando 4 escalas (avaliando incerteza futura, desordem visual, disfunção motora e déficit de comunicação) e 7 itens únicos (avaliação de outros sintomas da doença [por exemplo, dores de cabeça e convulsões] e efeitos tóxicos ao tratamento [por exemplo, perda de cabelo]). Os possíveis escores variam de 0 a 100; altos escores indicam pior HRQoL.

[000449] Mini-avaliação do Estado Mental: O Mini-exame do Estado Mental (MMSE©) é uma medida quantitativa breve do estado cognitivo em adultos. Ele pode ser usado para rastrear o comprometimento cognitivo, estimar a gravidade do comprometimento cognitivo em um determinado momento e acompanhar o curso das mudanças cognitivas em um indivíduo ao longo do tempo. Neste estudo, o escore de MEEM faz parte do exame neurológico realizado no contexto das avaliações da doença.

[000450] O MMSE é realizado no dia 1/início do tratamento, no final de cada ciclo de tratamento e a cada 8 semanas durante o período de

acompanhamento. As avaliações de MMSE coincidem com o cronograma de avaliação da doença, mas devem ser preenchidas antes de se anunciar o resultado da avaliação radiológica ao paciente. O MMSE pode ser concluído no início da próxima administração de tratamento programada. Durante o período de acompanhamento da sobrevida, o MEEM deve continuar a ser concluído a cada segunda visita de sobrevida (a cada 8 semanas) se o paciente ainda não tiver progredido.

[000451] O escore total do MMSE tem um intervalo possível de 0 (pior) a 30 (melhor).

#### Procedimentos de Segurança

[000452] No ciclo 1 dia 1 e em todos os dias de tratamento subsequentes, os sinais vitais, incluindo temperatura, pressão sanguínea em repouso, pulso e respiração, juntamente com o peso, serão coletados antes da infusão e aproximadamente 15 minutos após a conclusão da infusão. Um exame físico completo e um ECG de 12 derivações são realizados no início de cada ciclo.

#### Procedimentos Exploratórios de Biomarcadores de Tumores

[000453] Os biomarcadores de interesse que são analisados por imuno-histoquímica (IHQ) incluem, mas não estão limitados a EGFRvIII e biomarcadores de proliferação celular (por exemplo, Ki67). Os níveis de expressão (mRNA e/ou proteína) de PD-L1, GITR e LAG-3, bem como marcadores de linhagem de linfócitos infiltrantes tumorais (CD4, CD8, CD25, FoxP3) são analisados em amostras de biópsia de tumor para explorar o efeito potencial de REGN2810.

[000454] Amostras de tecido tumoral podem ser usadas para a extração de DNA e RNA tumorais e análises subsequentes de biomarcadores genéticos relevantes para o estudo do tratamento e glioblastoma. Uma amostra de sangue é coletada para isolamento do DNA da linhagem germinativa no dia 1/início do tratamento (pré-dose),

ou em qualquer visita de estudo, se a coleta no dia 1/início do tratamento não for possível. As análises do DNA tumoral incluem (mas não estão limitadas a) estado de metilação do promotor MGMT, estado mutacional de IDH1, instabilidade de microssatélites (MSI) e carga de mutação do tumor (ambas podem ser preditivas da resposta ao REGN2810 e outros agentes imunoterápicos). A análise de variantes genéticas no DNA do tumor (somático) e no DNA da linhagem germinativa que podem afetar a progressão da doença, a resposta ao fármaco e possíveis toxicidades são realizadas. O DNA da linhagem germinativa também é usado para comparação com o DNA do tumor para explorar novas variantes genéticas potenciais subjacentes a processos malignos.

#### Resultados

[000455] O REGN2810 em combinação com o hfRT é seguro e bem tolerado por pacientes com nGBM. A administração de REGN2810 em combinação com hfRT inibe o crescimento do tumor e/ou promove a regressão do tumor em pacientes com nGBM em comparação com a terapia padrão de cuidados. Pacientes com nGBM tratados com REGN2810 e hfRT mostram uma OS mais longa em comparação com a terapia padrão de cuidados.

Exemplo 11: Ensaio clínico de REGN2810 em pacientes com carcinoma de células escamosas cutâneas avançado

[000456] Este exemplo descreve um ensaio de fase 2 que foi realizado para confirmar os resultados positivos observados em pacientes com CSCC avançado em um ensaio de fase 1 (ver exemplos 7, 8 e 9).

#### Objetivos do Estudo

[000457] O objetivo primário deste estudo é estimar o benefício clínico da monoterapia com REGN2810 em pacientes com carcinoma de células escamosas cutâneas (CSCC) metastático (nodal ou distante) (Grupo 1) ou com CSCC localmente avançado não resseccionável (Grupo 2), como medido pela taxa de resposta global (ORR).

[000458] Os objetivos secundários do estudo são: (i) estimar a ORR; (ii) estimar a duração da resposta, sobrevida livre de progressão (PFS) e sobrevida geral (OS); (iii) estimar a taxa de resposta completa (CR); (iv) avaliar a segurança e tolerabilidade do REGN2810; (v) avaliar a farmacocinética (PK) do REGN2810; (vi) avaliar a imunogenicidade do REGN2810; e (vii) avaliar o impacto do REGN2810 na qualidade de vida usando o EORTC QLQ-C30.

#### Modelo de Estudo

[000459] Trata-se de um estudo multicêntrico de 2 grupos, não randomizado, de fase 2, do REGN2810 na dose de 3 mg/kg administrada por via intravenosa (IV) a cada 2 semanas para pacientes com CSCC avançado. O estudo tem dois grupos. Grupo 1 é para pacientes com CSCC metastático. O grupo 2 é para pacientes com CSCC localmente avançado e não resseccionável. Todos os pacientes são submetidos a procedimentos de triagem para determinar a elegibilidade dentro de 28 dias antes da administração inicial do REGN2810.

[000460] Após um período de triagem de até 28 dias, os pacientes recebem até doze ciclos de tratamento de 56 dias (8 semanas) por até 96 semanas de tratamento. Cada paciente recebe 3 mg/kg de REGN2810 IV nos dias 1,  $15 \pm 3$ ,  $29 \pm 3$  e  $43 \pm 3$  durante cada ciclo de tratamento. As avaliações do tumor são feitas no final de cada ciclo de tratamento. Extensas avaliações de segurança ocorrem no dia 1 de cada ciclo, com avaliações de segurança de rotina a serem realizadas em cada visita de dosagem do REGN2810.

[000461] Um paciente recebe tratamento até que o período de tratamento de 96 semanas esteja completo, ou até a progressão da doença, toxicidade inaceitável, retirada de consentimento ou confirmação de CR. Pacientes com CR confirmada após um mínimo de 48 semanas de tratamento podem optar por interromper o tratamento e

continuar com todas as avaliações relevantes do estudo (por exemplo, avaliações de eficácia).

#### Duração do Estudo

[000462] Rastreo (até 4 semanas), até 96 semanas de tratamento e até 6 meses de acompanhamento.

#### População de Estudo

[000463] Pacientes com CSCC metastático ou com CSCC localmente avançado não resseccionável.

#### Tratamento de Estudo

[000464] 3 mg/kg de RegN2810 administrados IV durante 30 minutos a cada 14 dias durante 96 semanas.

#### Variáveis e Estudo

[000465] O desfecho primário de eficácia para este estudo é ORR durante os 12 ciclos de tratamento. A taxa de resposta global é avaliada separadamente para pacientes com CSCC metastático ou CSCC avançado localmente não resseccionável: Para os pacientes do Grupo 1, os Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST) versão 1.1 são usados para determinar a ORR. Para os pacientes do Grupo 2, os critérios de resposta composta são usados para determinar a ORR. Em pacientes que atingem uma CR, biópsias tumorais são usadas na determinação final da resposta completa versus resposta parcial (PR).

[000466] As medidas secundárias de resultados de eficácia são: duração da resposta; duração do controle da doença; PFS; OS; Taxa de CR; mudança nos escores dos resultados relatados pelo paciente no EORTC QLQ-C30; eventos adversos (AEs); concentrações de REGN2810 no soro; e anticorpos anti-REGN2810.

#### Procedimentos e Avaliações

[000467] A imagem tumoral (tomografia computadorizada [CT] ou ressonância magnética [MRI]) e a fotografia médica digital (para lesões



visíveis externamente) são realizadas para medir a carga tumoral e para caracterizar o perfil de eficácia dos tratamentos de estudo usando critérios de resposta.

[000468] O exame físico, exames laboratoriais, sinais vitais, eletrocardiograma (ECG), teste de gravidez para mulheres em idade fértil e registro de AEs e medicações concomitantes são realizados para garantir a segurança do paciente e caracterizar os perfis de segurança dos tratamentos do estudo.

[000469] Outras avaliações incluem: Amostras de sangue periférico para PK; Amostras de sangue periférico para avaliar anticorpos anti-REGN2810; Biópsias tumorais; e Avaliações de qualidade de vida.

### Resultados

[000470] O ensaio está totalmente inscrito e os resultados até a data estão de acordo com os resultados da fase I (aqui descritos nos Exemplos 7, 8 e 9) com os pacientes apresentando inibição do crescimento do tumor após a administração de REGN2810. Os pacientes com CSCC metastático que foram tratados com terapias anteriores e não são passíveis de cirurgia mostram resposta completa, resposta parcial ou doença estável ao tratamento com o anticorpo anti-PD-1 REGN2810.

Exemplo 12: Ensaio clínico de REGN2810 em pacientes com carcinoma basocelular avançado

[000471] Foi conduzido um ensaio de fase 2 para confirmar os resultados positivos observados em pacientes com BCC avançado em um ensaio de fase 1 (ver Exemplos 7 e 8).

### Objetivos do Estudo

[000472] O objetivo primário do estudo é estimar a taxa de resposta global (ORR) para o carcinoma basocelular metastático (BCC) (Grupo I) ou BCC localmente avançado não resseccionável (Grupo II), quando tratado com REGN2810 em monoterapia em pacientes que progrediram

no inibidor da via de sinalização Hedgehog (HHI) ou foram intolerantes à terapia prévia com HHI.

[000473] Os objetivos secundários para o Grupo I e Grupo II são: (i) estimar a ORR de acordo com a revisão do investigador; (ii) estimar a duração da resposta, sobrevida livre de progressão (PFS) e sobrevida geral (OS); (iii) estimar a taxa de resposta completa (CR); (iv) avaliar a segurança e tolerabilidade do REGN2810; (v) avaliar a farmacocinética (PK) do REGN2810; (vi) avaliar a imunogenicidade do REGN2810; e (vii) avaliar o impacto do REGN2810 na qualidade de vida, usando o Questionário da Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Qualidade de Vida do Câncer 30 (EORTC QLQ-C30) e Skindex-16.

#### Modelo de Estudo

[000474] Trata-se de um estudo multicêntrico de fase 2, não randomizado, de 2 grupos, do REGN2810 em dose de 350 mg administrados por via intravenosa (IV) a cada 3 semanas (Q3W) em pacientes com BCC avançado que apresentaram progressão da doença em terapia com HHI, ou eram intolerantes à terapia prévia com HHI. O estudo tem dois grupos. O Grupo 1 é para pacientes com BCC metastático. O Grupo 2 é para pacientes com BCC localmente avançado não ressecionável. Todos os pacientes são submetidos a procedimentos de triagem para determinar a elegibilidade dentro de 28 dias antes da administração inicial do REGN2810. Não há randomização ou controle com placebo.

[000475] Após um período de triagem de até 28 dias, os pacientes recebem até 93 semanas de tratamento. Cada paciente recebe uma dose de 350 mg Q3W de REGN2810 IV. O tempo de infusão para REGN2810 é de aproximadamente 30 minutos ( $\pm$  10 minutos). As avaliações do tumor são feitas no final de cada ciclo de tratamento, 5 ciclos de tratamento de 9 semanas seguidos de 4 ciclos de tratamento de 12 semanas). Extensas avaliações de segurança ocorrem no dia 1

de cada ciclo, com avaliações de segurança de rotina a serem realizadas em cada visita de dosagem do REGN2810.

[000476] Um paciente recebe tratamento até que o período de tratamento de 93 semanas esteja completo ou até progressão da doença (PD), toxicidade inaceitável, retirada de consentimento ou confirmação de CR. Pacientes com CR confirmada após um mínimo de 48 semanas de tratamento podem optar por interromper o tratamento e continuar com todas as avaliações relevantes do estudo (por exemplo, avaliações de eficácia). Os pacientes que interromperem o tratamento do estudo devido a PD retornam à clínica 30 dias (intervalo: 28 dias a 42 dias) após o último tratamento do estudo para concluir as avaliações de fim de estudo (EOS). Após a visita EOS, os pacientes são seguidos para o estado de sobrevida até a morte, a perda de acompanhamento ou o término do estudo.

#### Duração do Estudo

[000477] Após um período de triagem de até 28 dias, os pacientes recebem até 93 semanas de tratamento. Após o término da visita de estudo, há um período de acompanhamento que consiste em períodos de 28 dias. Os pacientes são seguidos por estado de sobrevida até a morte, perda de acompanhamento ou término do estudo.

#### População de Estudo

[000478] Pacientes com BCC metastático (Grupo 1) ou BCC localmente avançado não resseccionável (Grupo 2) que apresentaram progressão da doença em terapia com HHI, ou eram intolerantes à terapia prévia com HHI.

#### Tratamento de Estudo

[000479] O tratamento de estudo compreendeu 350 mg de REGN2810 administrados IV durante 30 minutos ( $\pm$  10 minutos) uma vez a cada 3 semanas (q3w) durante até 93 semanas.

#### Desfechos

[000480] O desfecho primário de eficácia para este estudo é a ORR. A ORR é avaliada separadamente para pacientes com BCC metastático (Grupo 1) ou BCC localmente avançado não resseccionável (Grupo 2):

[000481] • Para os pacientes do Grupo 1 (BCC metastático), os Critérios de Avaliação da Resposta em Tumores Sólidos (RECIST) versão 1.1 são usados para determinar a ORR. OS critérios de resposta clínica podem ser usados para pacientes com lesões alvo visíveis externamente, se todas as lesões metastáticas não forem mensuráveis por RECIST (como pode ocorrer em pacientes com metástases ósseas).

[000482] • Para os pacientes do Grupo 2 (BCC localmente avançado não resseccionável), os critérios clínicos são usados para determinar a RRO. Critérios de resposta composta são usados para pacientes com lesões mensuráveis pelos critérios de resposta clínica e RECIST 1.1.

[000483] Os desfechos secundários são: (i) Duração da resposta; (ii) PFS; (iii) OS; (iv) taxa de CR; (v) Alteração no escore dos resultados relatados pelo paciente no EORTC QLQ-C30 e no Skindex-16; (vi) eventos adversos (AEs); (vii) Concentrações de REGN2810 no soro; e (viii) anticorpos anti-REGN2810.

#### Procedimentos e Avaliações

[000484] Imagiologia tumoral (tomografia computadorizada [CT] ou ressonância magnética [MRI]) e fotografia médica digital (para lesões visíveis externamente) é realizada para medir a carga tumoral e para caracterizar o perfil de eficácia dos tratamentos do estudo usando critérios de resposta. Exame físico, exames laboratoriais, sinais vitais, eletrocardiograma (ECG), teste de gravidez para mulheres com potencial para engravidar e registro de AEs e medicações concomitantes são realizados para garantir a segurança do paciente e caracterizar os perfis de segurança dos tratamentos do estudo. Outras avaliações incluem amostras de sangue para PK, amostras de sangue para avaliar anticorpos anti-REGN2810, biópsias tumorais,

biomarcadores e avaliações de qualidade de vida.

### Resultados

[000485] Espera-se que consistente com os resultados da fase 1 (ver Exemplos 7 e 8), a administração de REGN2810 conduz à regressão tumoral em pacientes com carcinoma basocelular avançado que mostraram progressão da doença após tratamento com um inibidor da via de sinalização Hedgehog (HHI) ou eram intolerantes à terapia prévia com HHI. Os pacientes apresentam resposta completa, resposta parcial ou doença estável após tratamento com REGN2810.

[000486] A presente invenção não deve ser limitada no escopo pelas modalidades específicas descritas aqui. De fato, várias modificações da invenção além das aqui descritas tornar-se-ão evidentes para os versados na técnica a partir da descrição anterior e das figuras em anexo. Tais modificações destinam-se a estar dentro do escopo das reivindicações em anexo.

## REIVINDICAÇÕES

1. Uso de um anticorpo isolado ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1, caracterizado pelo fato de que é para fabricação de um medicamento para tratar ou inibir o crescimento de um tumor em um paciente, em que o tumor compreende carcinoma basocelular (BCC);

em que o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende três regiões determinantes de complementaridade de cadeia pesada (HCDR1, HCDR2 e HCDR3) de uma região variável de cadeia pesada (HCVR) e três regiões determinantes de complementaridade de cadeia leve (LCDR1, LCDR2 e LCDR3) de uma região variável de cadeia leve (LCVR), em que HCDR1 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; HCDR2 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; HCDR3 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; LCDR1 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; LCDR2 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 e LCDR3 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 8.

2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que BCC é metastático, não ressecionável e/ou localmente avançado.

3. Uso, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o paciente foi previamente tratado com pelo menos uma terapia anticâncer.

4. Uso, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a terapia anticâncer é selecionada de cirurgia, radiação, quimioterapia, um inibidor da via de sinalização de hedgehog e outro anticorpo anti-PD-1.

5. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que BCC progrediu após o tratamento

prévio com, ou o paciente é intolerante a, um inibidor da via de sinalização de hedgehog.

6. Uso, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que o inibidor da via de sinalização de hedgehog é selecionado de vismodegib e sonedegib.

7. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é formulado para administração como uma monoterapia.

8. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo é formulado para administração em combinação com um agente terapêutico adicional ou terapia selecionado a partir do grupo que consiste em inibidor da via de sinalização de hedgehog, cirurgia, radiação, um agente quimioterápico, uma vacina contra o câncer, um inibidor do ligante de morte celular programada 1 (PD-L1), um inibidor do gene de ativação linfocitária 3 (LAG3), um inibidor da proteína 4 associada aos linfócitos T citotóxicos (CTLA-4), um anticorpo anti-receptor de fator de necrose tumoral induzido por glicocorticoides (GITR), um inibidor contendo imunoglobulina de células T e o domínio da mucina-3 (TIM3), um inibidor do atenuador de linfócitos B e T (BTLA), um inibidor do imunorreceptor de células T com domínios Ig e ITIM (TIGIT), um inibidor de CD47, um inibidor da indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO), um anticorpo anti-CD3/anti-CD20 biespecífico, um antagonista do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), um inibidor da angiopoietina-2 (Ang2), um inibidor do fator de crescimento transformante beta (TGF $\beta$ ), um inibidor de CD38, um inibidor do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), ciclofosfamida, um anticorpo contra um antígeno tumor-

específico, vacina para Bacillus Calmette-Guerin, uma citotoxina, um inibidor do receptor de interleucina 6 (IL-6R), um inibidor do receptor da interleucina 4 (IL-4R), um inibidor de IL-10, IL-2, IL-7, IL-21, IL-15, um conjugado anticorpo-fármaco, um fármaco anti-inflamatório e um suplemento dietário.

9. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti-PD-1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é formulado para ser administrado de forma intravenosa, subcutânea ou intraperitoneal.

10. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que a HCVR compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, e a LCVR compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

11. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

12. Uso de um anticorpo isolado ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a PD-1, caracterizado pelo fato de que é para fabricação de um medicamento para tratar ou inibir o crescimento de um tumor em um paciente, em que o tumor compreende carcinoma basocelular (BCC) localmente avançado ou BCC metastático,

em que o anticorpo compreende três regiões determinantes de complementaridade de cadeia pesada (HCDR1, HCDR2 e HCDR3) de uma região variável de cadeia pesada (HCVR) e três regiões determinantes de complementaridade de cadeia leve (LCDR1, LCDR2 e LCDR3) de uma região variável de cadeia leve (LCVR), em que HCDR1 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;



HCDR2 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;  
HCDR3 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;  
LCDR1 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;  
LCDR2 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 e  
LCDR3 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 8;

em que o paciente foi previamente tratado com um inibidor da via de sinalização de hedgehog, o paciente não é mais passível de tratamento com o inibidor da via de sinalização de hedgehog e o anticorpo é para ser administrado de forma intravenosa.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti-PD-1 compreende um HCVR compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, e um LCVR compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

14. Uso, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que o anticorpo compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

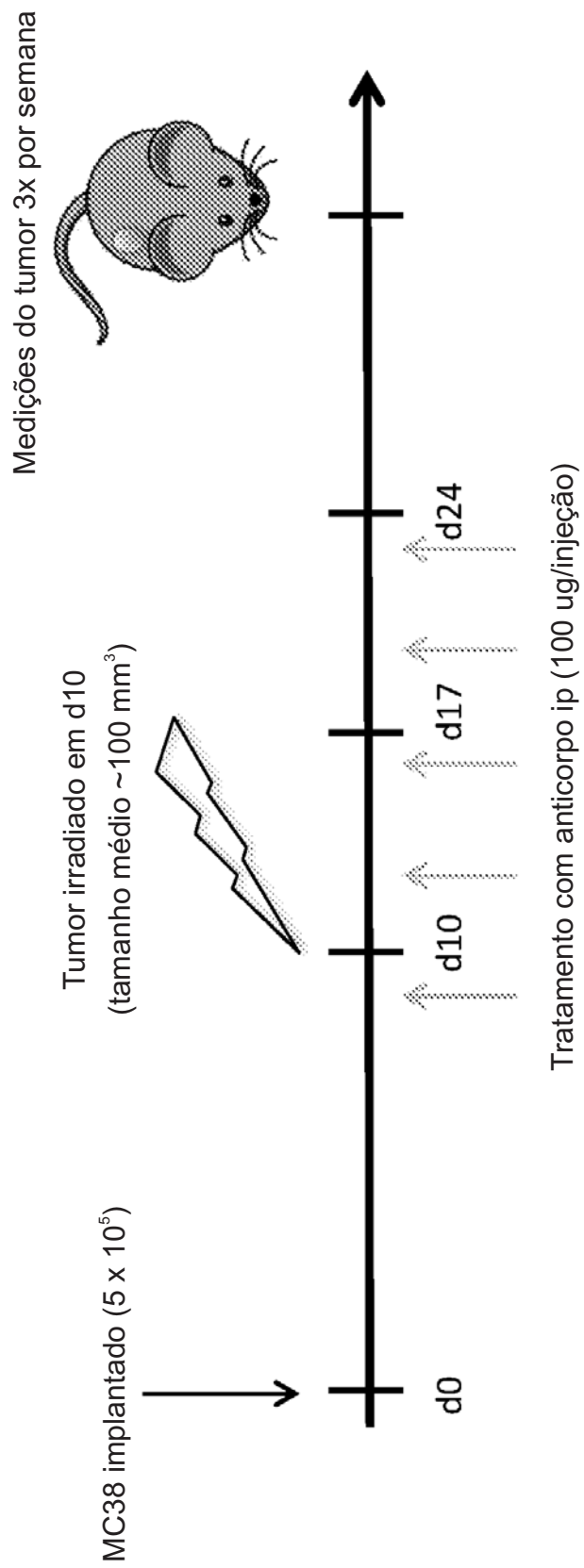


FIG. 1

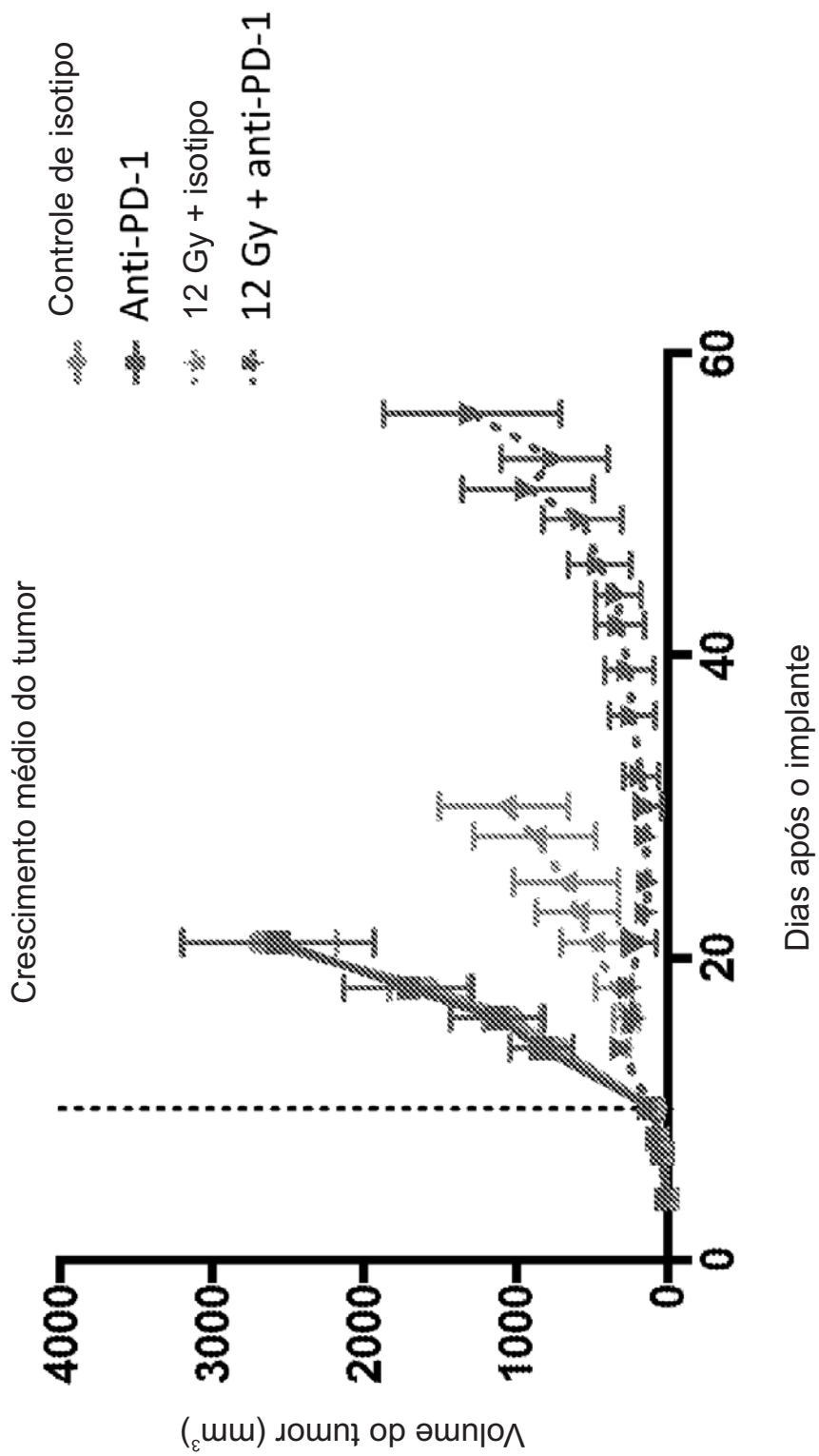


FIG. 2

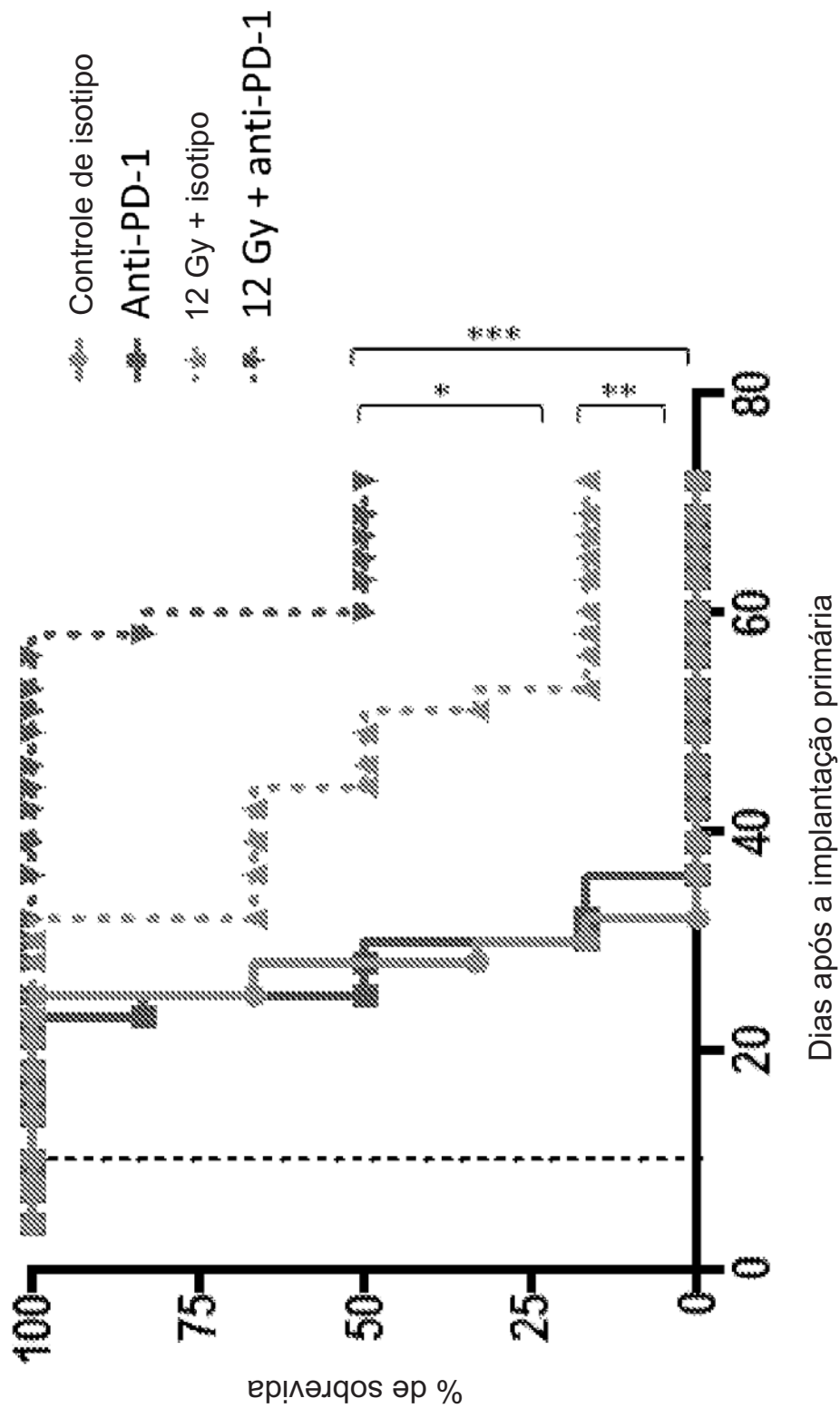


FIG. 3

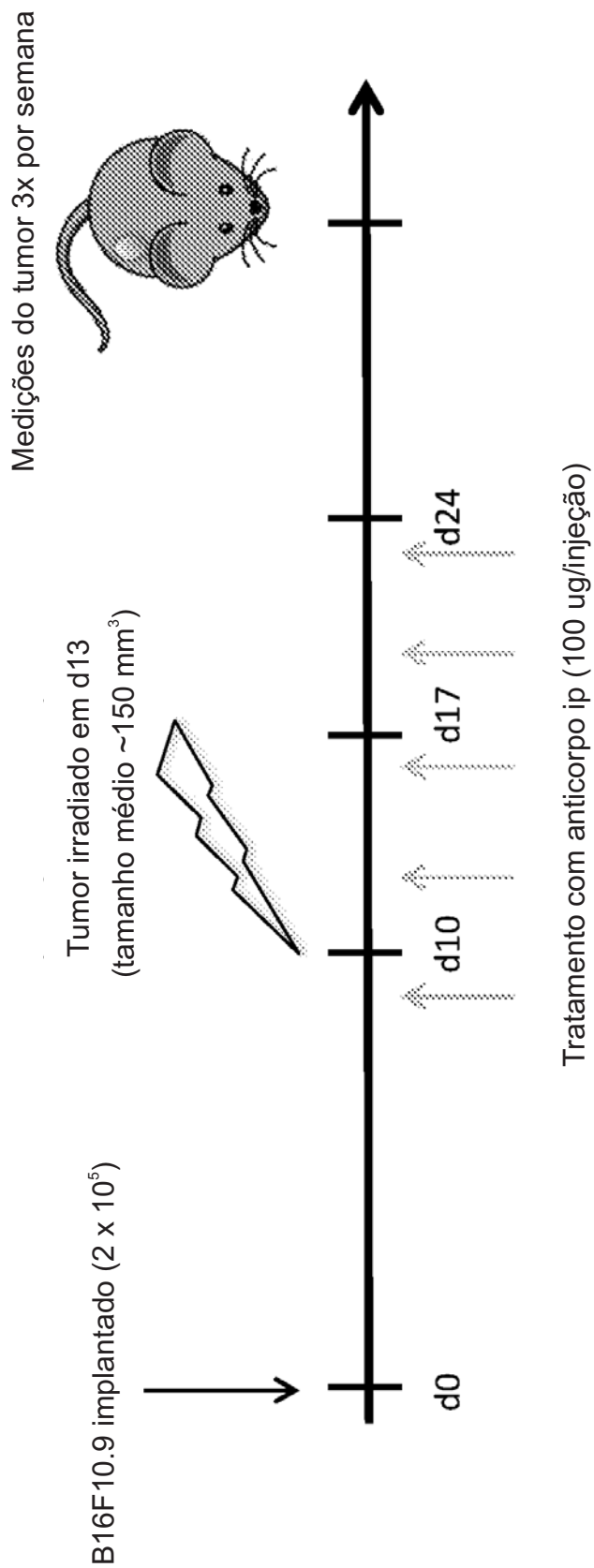


FIG. 4

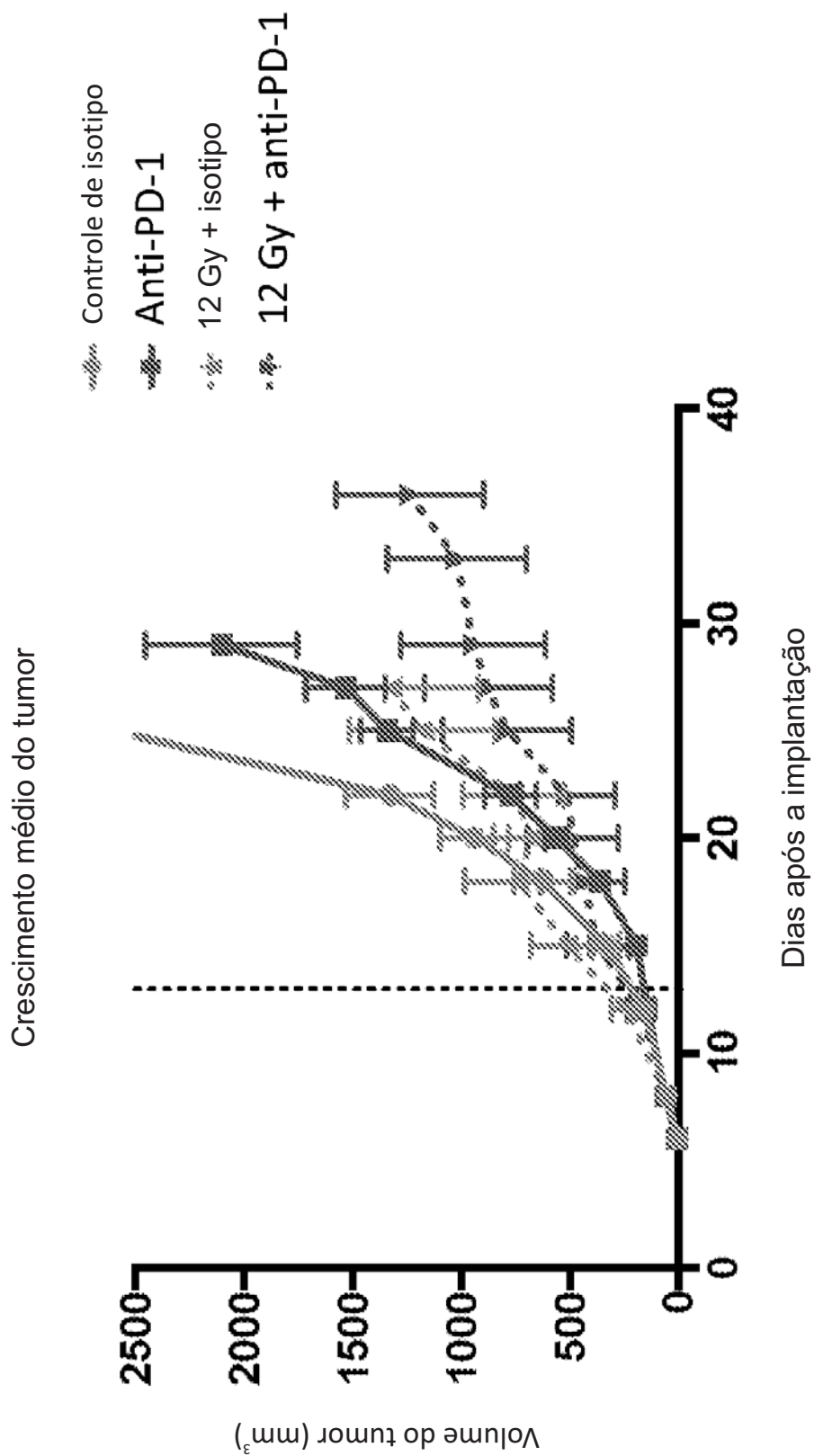


FIG. 5

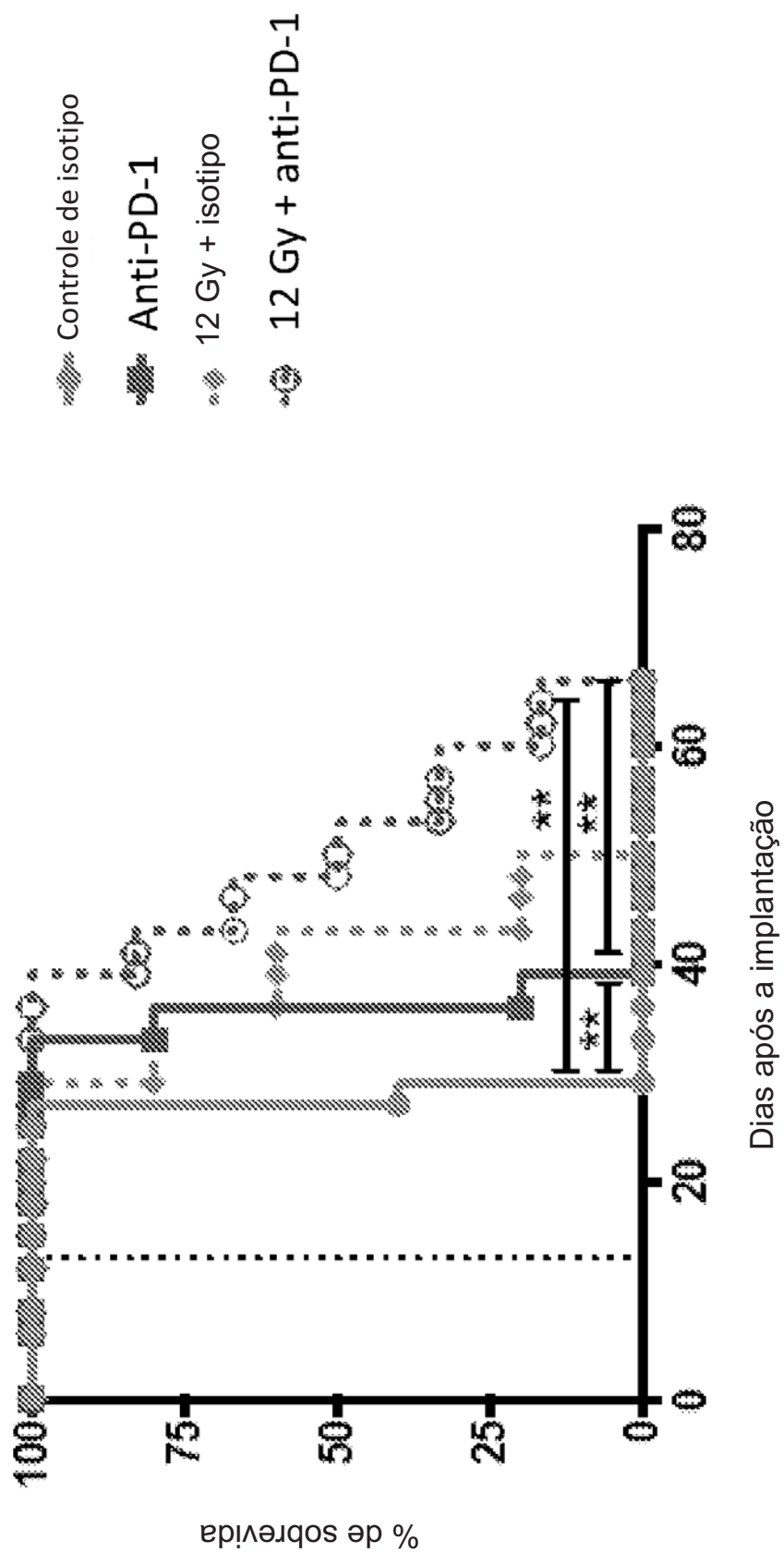


FIG. 6

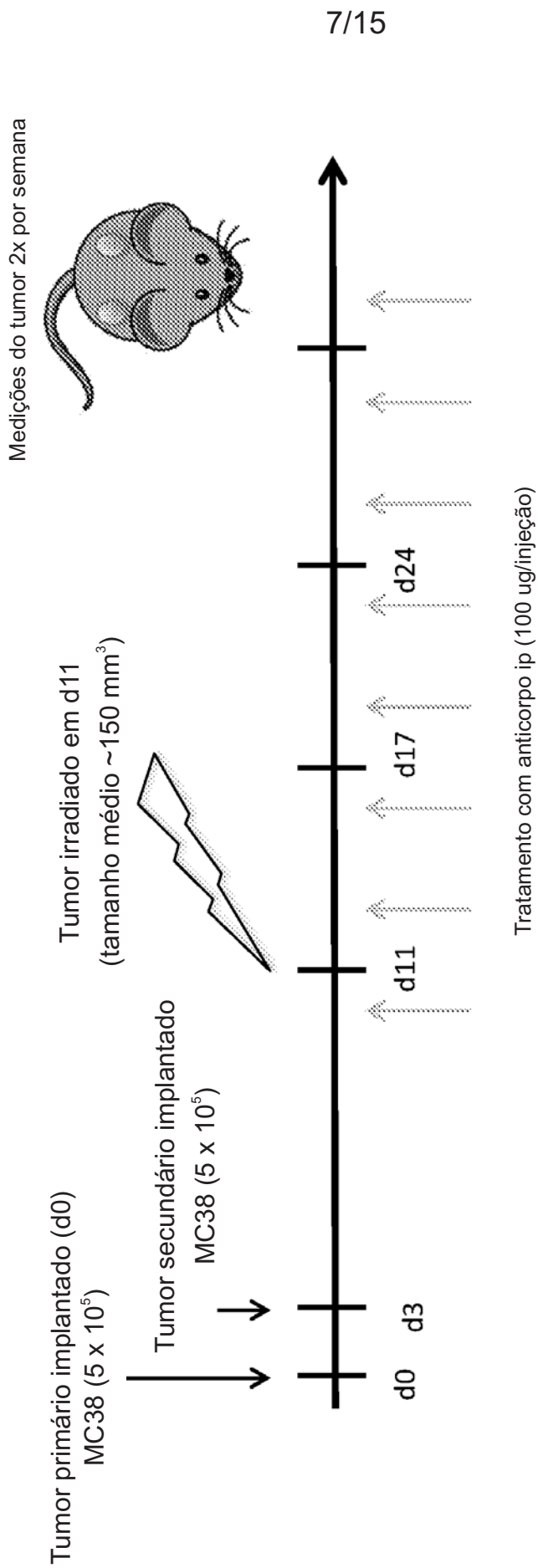


FIG. 7



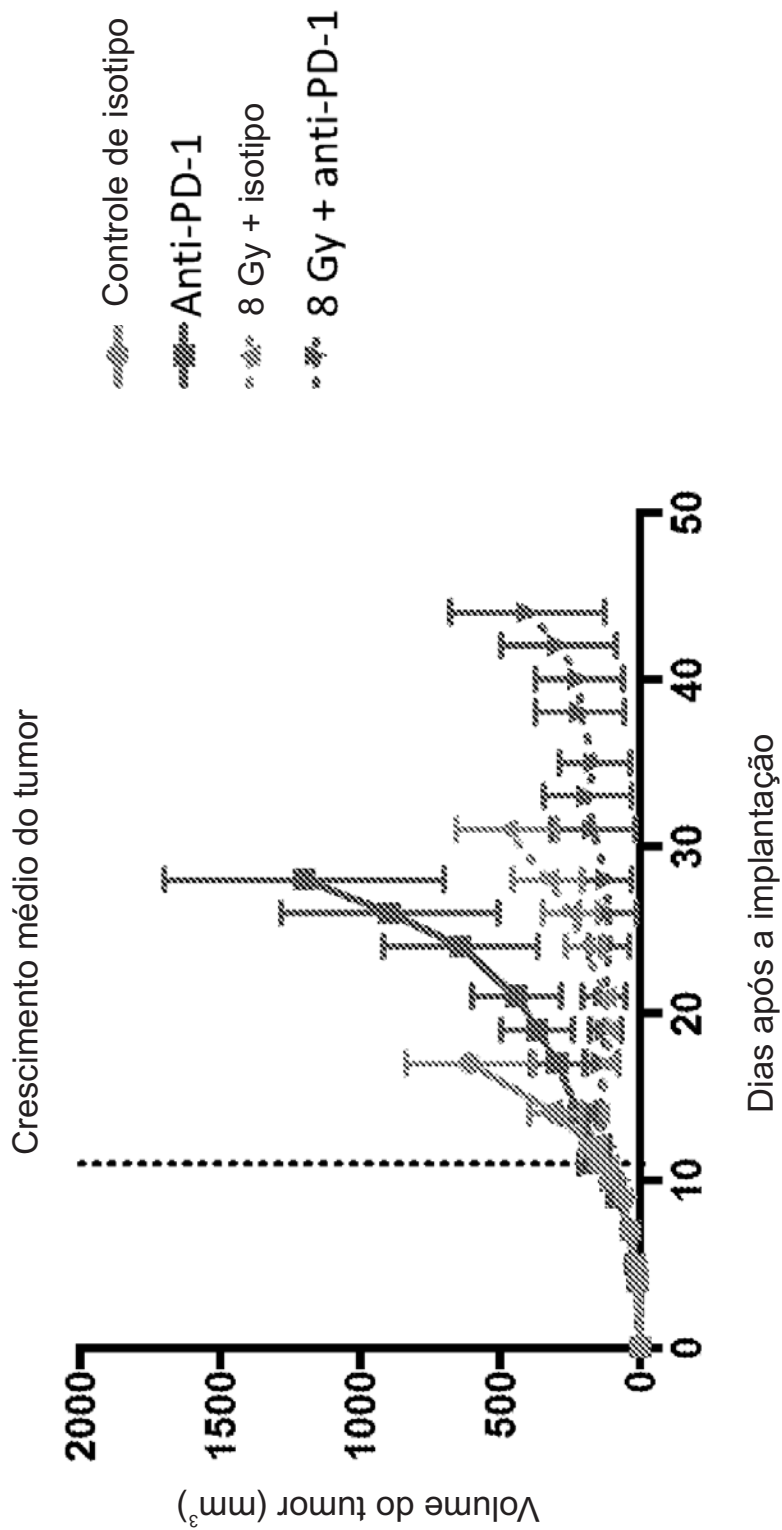


FIG. 8

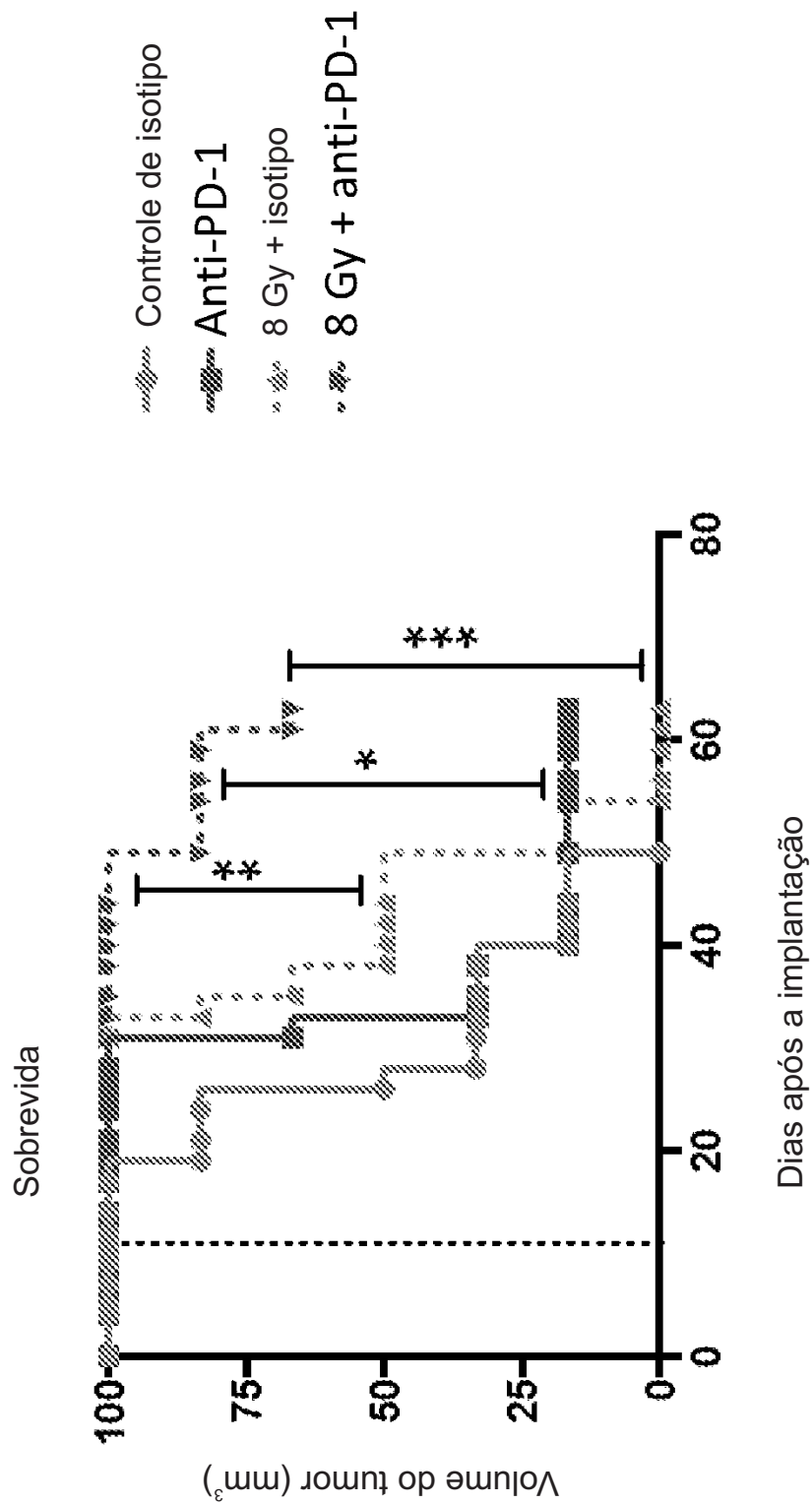


FIG. 9

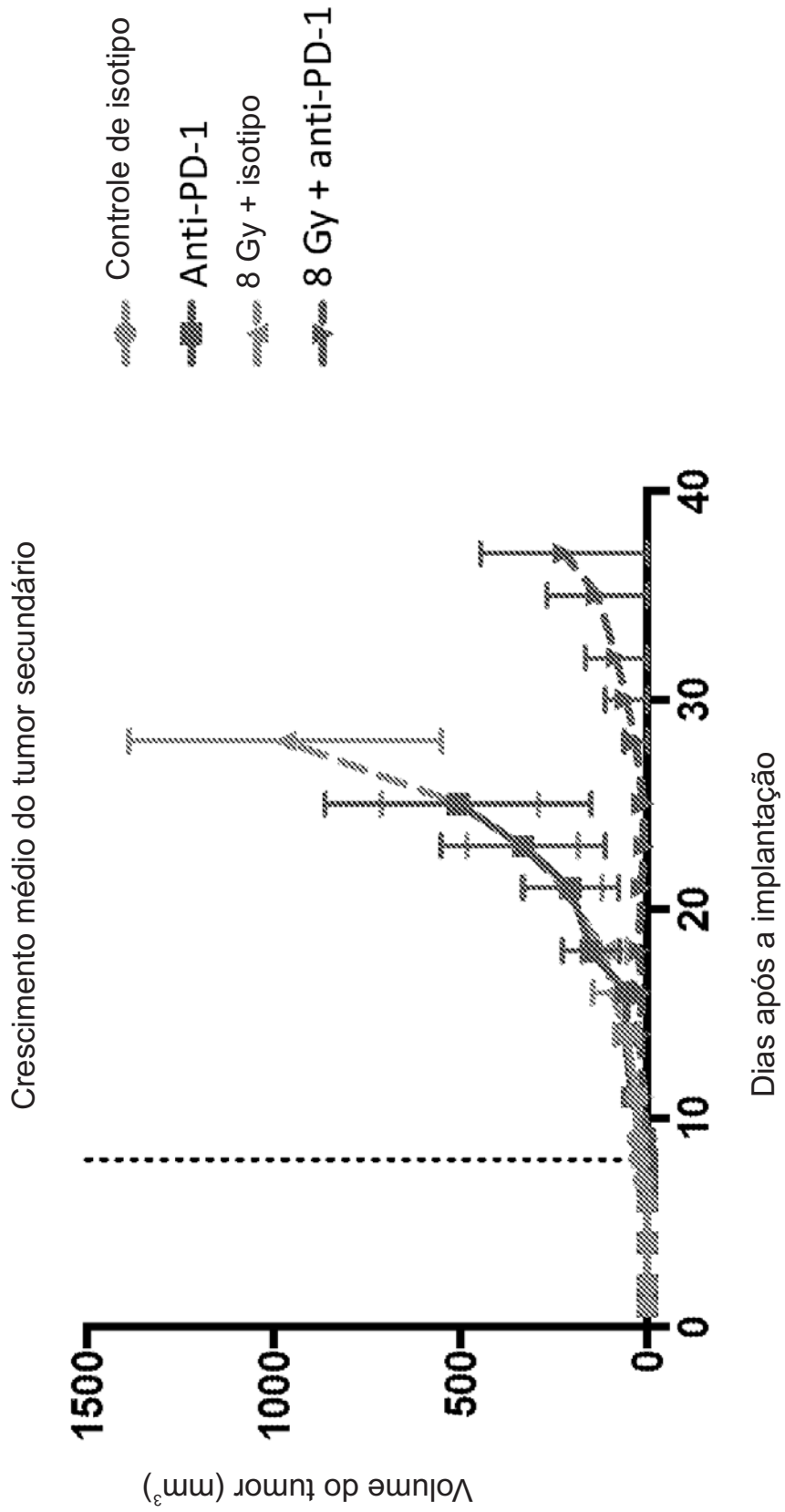
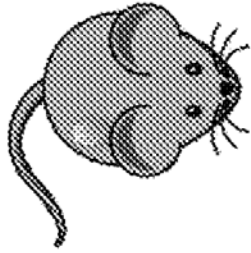
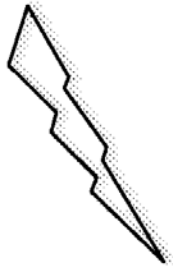


FIG. 10

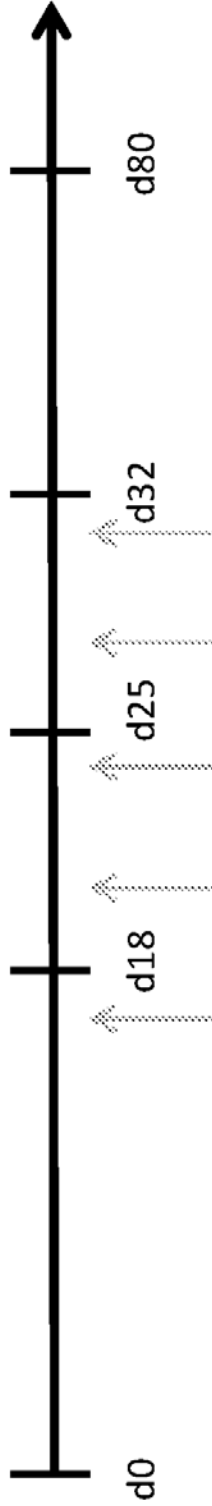
Medições do tumor 2x por semana



Tumor irradiado em d18  
(tamanho médio ~150 mm<sup>3</sup>)



MC38 implantado ( $5 \times 10^5$ )



Tratamento com anticorpo ip (100 ug/injeção)

FIG. 11

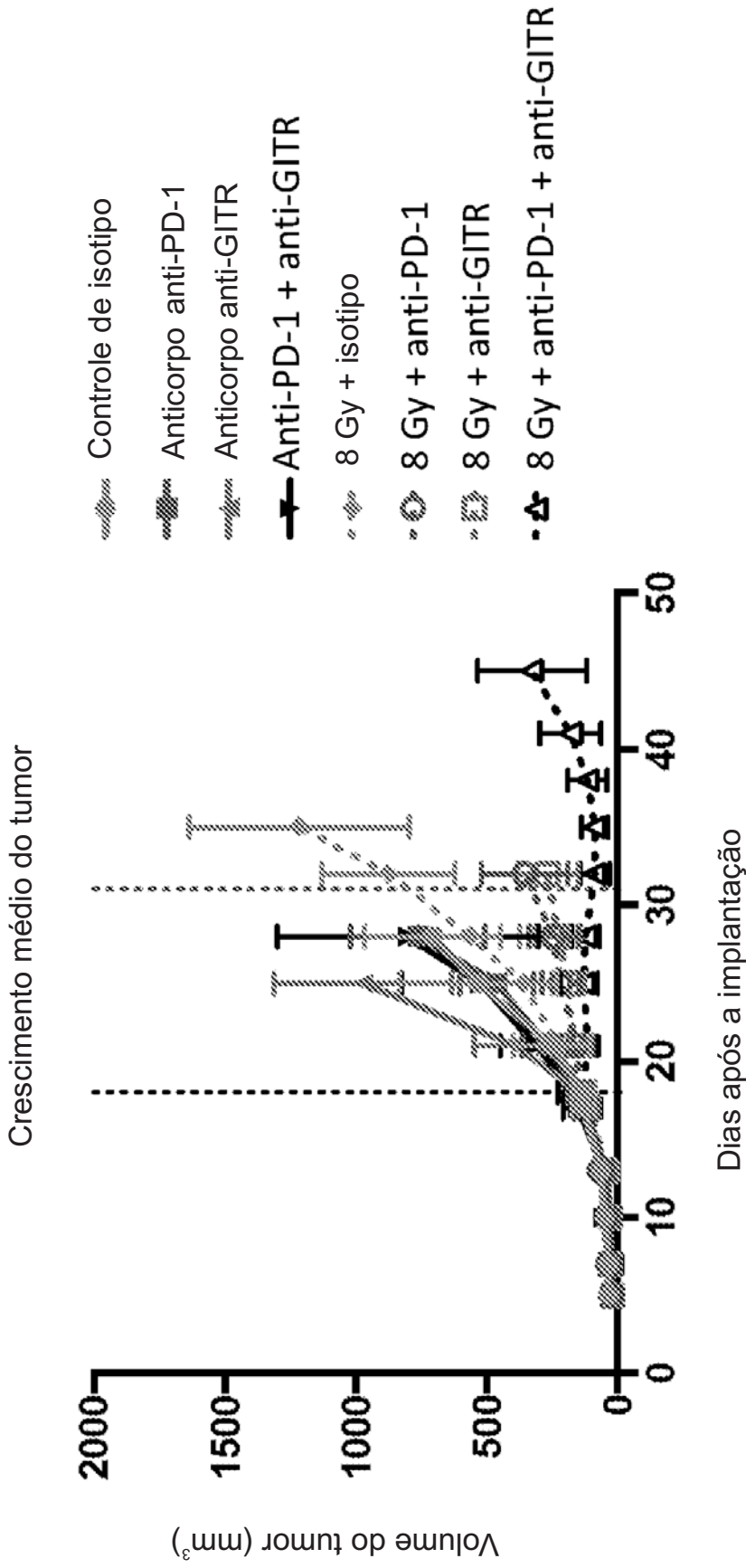


FIG. 12

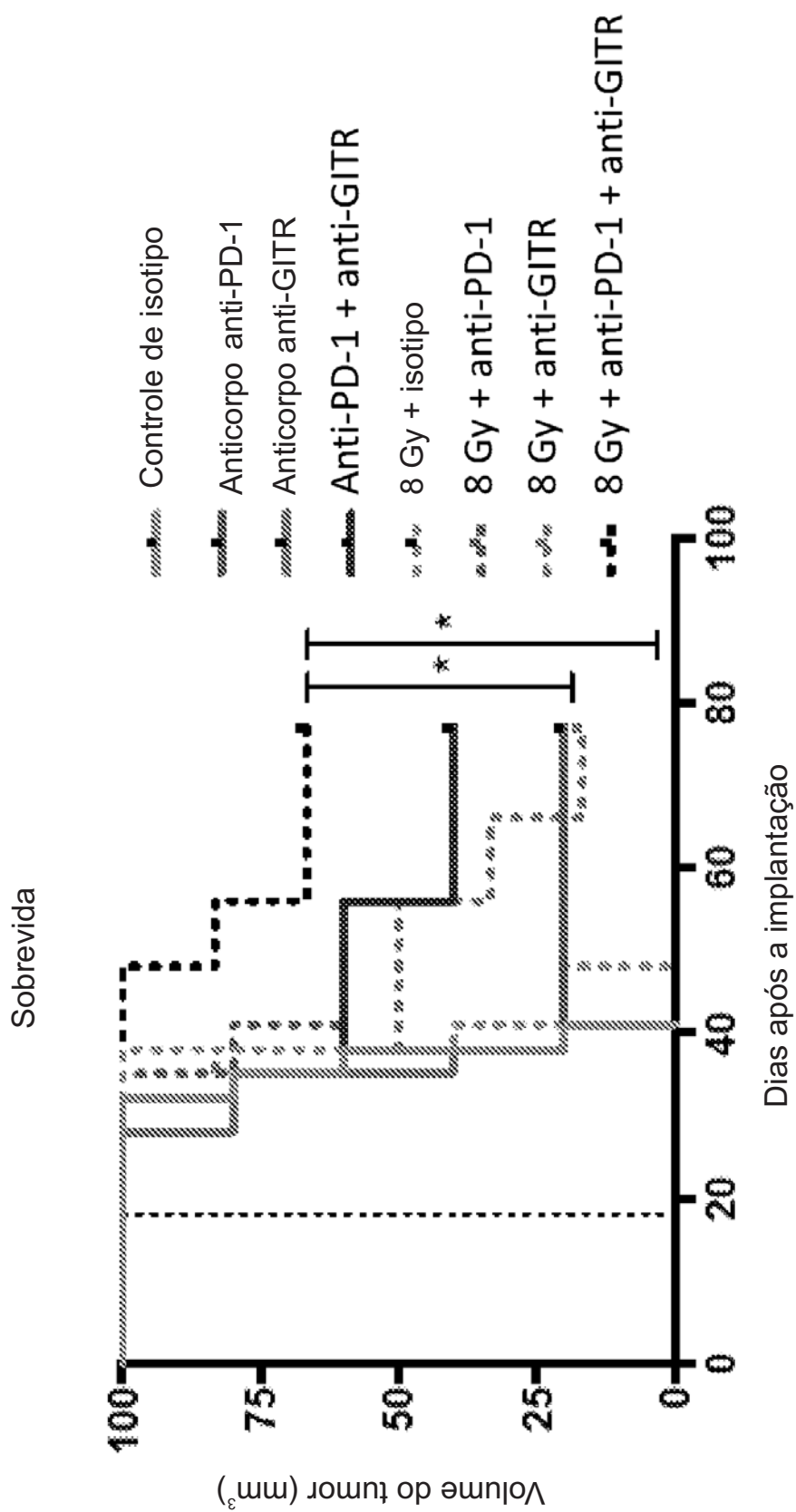
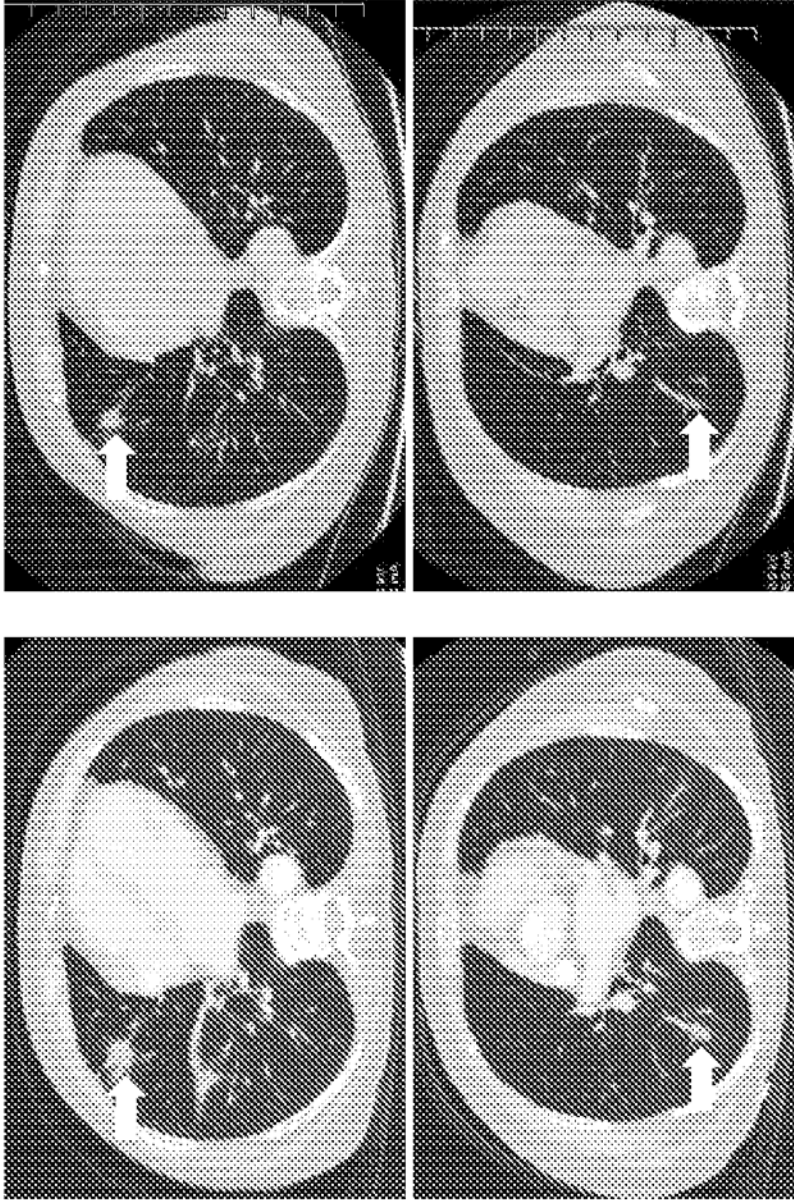


FIG. 13

(A)



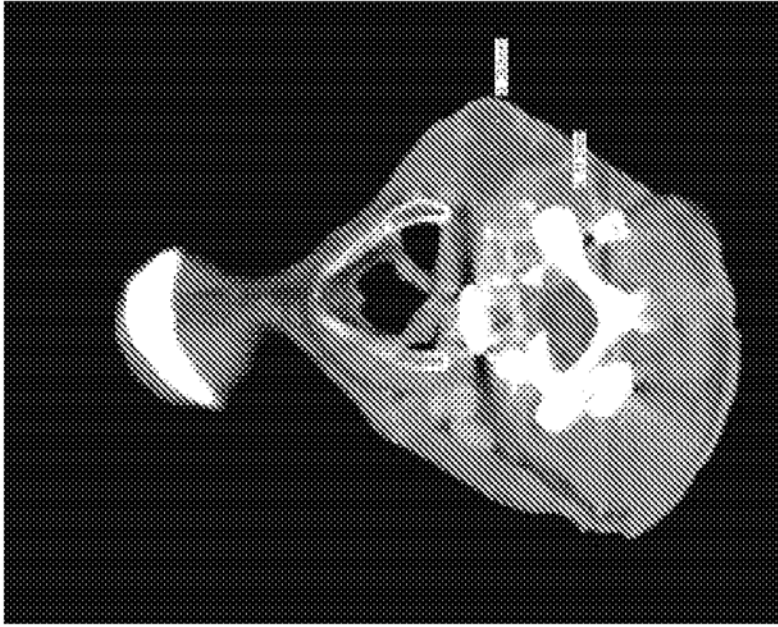
Início do tratamento

Semana 24

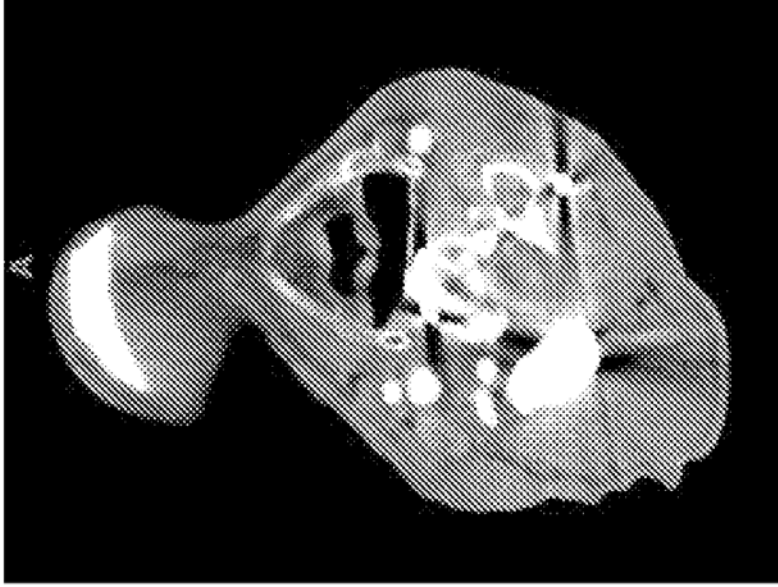
FIG. 14A



(B)



Início do tratamento



Semana 16

FIG. 14B