

Brevetto europeo No. 3463457

Domanda di brevetto europeo No. 17730627.1

Data di deposito: 01 giugno 2017

Classificazione IPC: A61K39/395, C07K16/28, A61K39/00

5 Classificazione CPC: A61K39/39558 (EP,KR,US); A61K39/3955 (US); A61K31/351 (US);  
A61K31/475 (US); A61K31/655 (US); A61K45/06 (EP,KR,US); (+)

Priorità: Statunitense No. 201662344880P del 02 giugno 2016

Titolo: BLOCCO DI PD-1 CON NIVOLUMAB NEL LINFOMA DI HODGKIN REFRATTARIO

Richiedente: Bristol-Myers Squibb Company

10 Route 206 and Province Line Road  
Princeton, NJ 08543  
U.S.A.

Inventore: FARSACI, Benedetto

\*\*\*\*\*

15 Descrizione

#### CAMPO DELLA DIVULGAZIONE

Questa divulgazione riguarda metodi di trattamento di un linfoma di Hodgkin in un soggetto bisognoso, che prevedono di somministrare al soggetto un anticorpo anti-morte programmata-1 (PD-1), in cui il soggetto è precedentemente non trattato se non con corticosteroidi.

20 SFONDO DELLA DIVULGAZIONE

I cancro umani ospitano numerose alterazioni genetiche ed epigenetiche, generando neoantigeni potenzialmente riconoscibili dal sistema immunitario (Sjoblom et al. (2006) Science 366:268-74). Il sistema immunitario adattativo, costituito dai linfociti T e B, è dotato di un potente potenziale anticancro con un'ampia capacità e una squisita specificità di risposta a diversi antigeni tumorali. Inoltre, il sistema immunitario dimostra una considerevole plasticità e una

componente di memoria. L'immunoterapia è unica tra tutte le modalità di trattamento del cancro perché sfrutta con successo tutti questi attributi del sistema immunitario adattativo.

Fino a poco tempo fa, l'immunoterapia oncologica aveva concentrato uno sforzo sostanziale sugli approcci che potenziano le risposte immunitarie antitumorali attraverso il trasferimento adottivo di cellule effettrici attivate, l'immunizzazione contro antigeni importanti, o la fornitura di agenti immunostimolanti aspecifici, come le citochine. Nell'ultimo decennio, tuttavia, gli intensi sforzi profusi nello sviluppo di inibitori specifici delle vie di checkpoint immunitarie hanno iniziato a fornire nuovi approcci immunoterapeutici per il trattamento del cancro

Il nivolumab (già designato 5C4, BMS-936558, MDX-1106 o ONO-4538) è un anticorpo completamente umano di isotipo IgG4 (S228P) che inibisce il checkpoint immunitario PD-1 e che, impedendo selettivamente l'interazione con i ligandi per PD-1 (PD-L1 e PD-L2), blocca la sottoregolazione delle funzioni antitumorali delle cellule T (brevetto US 8.008.449; Wang et al. (2014) *Cancer Immunol. Res.* 2:846-56). Il nivolumab ha mostrato attività in una varietà di tumori solidi avanzati, tra cui il carcinoma a cellule renali (adenocarcinoma renale o ipernefoma), il melanoma, il linfoma di Hodgkin recidivato o refrattario, e il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) (Topalian et al. (2012) *N. Engl. J. Med.* 366:2443-54; Topalian et al. (2014) *J. Clin. Oncol.* 32:1020-30; Drake et al. (2013) *BJU Int.* 112:1-17; Ansell et al. (2015) *Blood* 126:583 [Riassunto]; Ansell et al. (2015) *N. Engl. J. Med.* 372:311; pubblicazione PCT WO 2013/173223).

Per poter sopravvivere in un ospite immunocompetente, molti cancro umani hanno sviluppato meccanismi che disabilitano le risposte immunitarie dirette contro i neoantigeni tumorali. Ad esempio, il linfoma di Hodgkin classico (cHL), una neoplasia maligna delle cellule B che colpisce comunemente i giovani adulti, è caratterizzato da un piccolo numero di cellule di Reed-Sternberg (RS) neoplastiche all'interno di un esteso infiltrato di cellule infiammatorie/immunitarie (Green et al. (2010) *Blood* 116:3268-77). Tuttavia, l'evidenza di una risposta immunitaria antitumorale efficace è scarsa, suggerendo un possibile ruolo di vie di immunoevasione nella sopravvivenza del tumore nell'ospite. Infatti, le cellule RS di Hodgkin (HRS) esprimono molecole che limitano l'efficacia delle risposte delle cellule T (Juszczynski et al. (2007) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 104:13134-9; e Kuppers (2009) *Nat. Rev. Cancer* 9:15-27).

I linfomi di Hodgkin classici comprendono piccoli numeri di cellule di Reed-Sternberg maligne all'interno di un infiltrato di cellule infiammatorie e immunitarie che è esteso ma inefficace (Taube et al. (2014) Clin. Cancer Res. 20:5064-74; Topalian et al. (2014) J. Clin. Oncol. 32:1020-30). I geni codificanti per i ligandi per PD-1, PD-L1 e PD-L2 (anche rispettivamente denominati CD274 e PDCD1LG2), sono bersagli chiave di un'amplificazione del cromosoma 9p24.1, un'anomalia genetica ricorrente nel linfoma di Hodgkin (Taube et al. (2014) Clin. Cancer Res. 20:5064-74). L'amplicone di 9p24.1 comprende anche JAK2, e l'attività di JAK-STAT dipendente dal dosaggio genico induce ulteriormente la trascrizione dei ligandi per PD-1 (Green et al. (2010) Blood 116:3268-77). I geni codificanti per i ligandi per PD-1, PDL1 e PDL2 (anche rispettivamente denominati CD274 e PDCD1LG2), sono bersagli chiave di un'amplificazione del cromosoma 9p24.1, un'anomalia genetica ricorrente nel linfoma di Hodgkin del tipo sclerosi nodulare (Taube et al. (2014) Clin. Cancer Res. 20:5064-74), e analisi recenti che integrano i dati sui numeri di copie ad alta risoluzione con i profili trascrizionali hanno identificato PD-L1 e PD-L2 come bersagli chiave di un'amplificazione del cromosoma 9p24.1 (Green et al. (2010) Blood 116:3268-77). Questi meccanismi dipendenti dal numero di copie, come anche altri riarrangiamenti meno frequenti, danno luogo ad una sovraespressione geneticamente determinata dei ligandi per PD-1 sulla superficie delle cellule HRS (Steidl et al. (2011) Nature 471:377-81; Andorsky et al. (2011) Clin. Cancer Res. 17:4232-44).

L'infezione da virus di Epstein-Barr (EBV), anch'essa comune in cHL, è un meccanismo aggiuntivo di sovraespressione di PD-L1 che è coerente con la nota capacità del virus di usurpare la via di PD-1 per permettere la persistenza del virus nell'ospite (Green et al. (2012) Clin. Cancer Res. 18:1611-8). Ne consegue che anche l'infezione da virus di Epstein-Barr (EBV) aumenta l'espressione dei ligandi per PD-1 nei linfomi di Hodgkin EBV-positivi (Armand et al. (2013) J. Clin. Oncology 31:4199-206). Come conseguenza delle due vie complementari costituite dalle alterazioni in 9p24.1 e dall'infezione da EBV, oltre l'80% dei casi di cHL hanno un'espressione aumentata di PD-L1 sulla superficie, suggerendo un ruolo centrale della via di PD-1 in questa malattia (Chen et al. (2013) Clin. Cancer Res. 19:3462-73).

I trattamenti correnti per cHL comprendono principalmente la chemioterapia, la radioterapia, e il trapianto di cellule staminali/midollo osseo. Nonostante tali opzioni di trattamento, molti pazienti affetti da cHL non riescono a

ottenere una remissione completa o finiscono per recidivare dopo il trattamento (Kuruvilla et al. (2011) Blood 117:4208-17). È dunque necessaria un'opzione di trattamento più efficace per cHL e altri cancri umani.

#### RIEPILOGO DELLA DIVULGAZIONE

5 L'invenzione rivendicata riguarda nivolumab, un anticorpo che si lega specificatamente ad un recettore della morte programmata-1 (PD-1) ("anticorpo anti-PD-1"), per l'uso in un metodo di trattamento di un linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato in un soggetto bisognoso, in cui il soggetto è precedentemente non trattato se non con corticosteroidi; e in cui il soggetto va a ricevere in somministrazione nivolumab prima da solo ad una dose flat di 240 mg ogni 2 settimane per 4 dosi, e poi ad una dose flat di 240 mg in combinazione con doxorubicina, vinblastina e dacarbazina circa ogni 2 settimane per 6 cicli di combinazione, in cui la doxorubicina va somministrata ad una dose di 10 25 mg/m<sup>2</sup>, la vinblastina va somministrata ad una dose di 6 mg/m<sup>2</sup>, e la dacarbazina va somministrata ad una dose di 375 mg/m<sup>2</sup>.

In alcune forme esecutive dell'invenzione rivendicata, il soggetto non riceve in somministrazione bleomicina.

15 In alcune forme esecutive dell'invenzione rivendicata, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato per tutto il tempo in cui viene osservato un beneficio clinico, o fino a constatare una tossicità ingestibile o una progressione della malattia. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 è formulato per la somministrazione endovenosa.

In alcune forme esecutive dell'invenzione rivendicata, il metodo prevede inoltre di somministrare uno o più agenti anticancro aggiuntivi.

In alcune forme esecutive dell'invenzione rivendicata, il linfoma di Hodgkin ha un'alterazione genetica in 9p24.1.

20 Il linfoma di Hodgkin potrà esprimere PD-L1 e/o PD-L2. In alcuni casi, l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 è almeno circa 1%. In altri casi, l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 nel tumore è almeno circa 5%. In casi ulteriori, l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 nel tumore è almeno circa 10%. L'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 può essere misurata in immunoistochimica (IHC) automatizzata o ibridazione fluorescente in situ.

25 In casi particolari, il soggetto mostra una sopravvivenza libera da progressione di almeno circa un mese, almeno circa 2 mesi, almeno circa 3 mesi, almeno circa 4 mesi, almeno circa 5 mesi, almeno circa 6 mesi, almeno circa

7 mesi, almeno circa 8 mesi, almeno circa 9 mesi, almeno circa 10 mesi, almeno circa 11 mesi, almeno circa un anno, almeno circa diciotto mesi, almeno circa due anni, almeno circa tre anni, almeno circa quattro anni o almeno circa cinque anni dopo la somministrazione iniziale. In altri casi, il soggetto mostra una sopravvivenza globale di almeno circa un mese, almeno circa 2 mesi, almeno circa 3 mesi, almeno circa 4 mesi, almeno circa 5 mesi, almeno circa 6 mesi, almeno circa 7 mesi, almeno circa 8 mesi, almeno circa 9 mesi, almeno circa 10 mesi, almeno circa 11 mesi, almeno circa un anno, almeno circa diciotto mesi, almeno circa due anni, almeno circa tre anni, almeno circa quattro anni o almeno circa cinque anni dopo la somministrazione iniziale.

L'invenzione rivendicata riguarda inoltre un kit per l'uso in un metodo di trattamento di un linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato in un soggetto precedentemente non trattato se non con corticosteroidi, in cui il soggetto va a ricevere in somministrazione nivolumab prima da solo ad una dose flat di 240 mg ogni 2 settimane per 4 dosi, e poi ad una dose flat di 240 mg in combinazione con doxorubicina, vinblastina e dacarbazina circa ogni 2 settimane per 6 cicli di combinazione, in cui la doxorubicina va somministrata ad una dose di 25 mg/m<sup>2</sup>, la vinblastina va somministrata ad una dose di 6 mg/m<sup>2</sup> e la dacarbazina va somministrata ad una dose di 375 mg/m<sup>2</sup>, il kit comprendendo: (a) un dosaggio di nivolumab; e (b) un dosaggio di doxorubicina, vinblastina e dacarbazina.

Il kit dell'invenzione comprende opzionalmente istruzioni per determinare l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 nel tumore. In alcune forme esecutive, il kit comprende un agente per determinare l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 nel tumore. In alcune forme esecutive, l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 viene misurata con un anticorpo anti-PD-L1 e/o PD-L2. Ulteriori caratteristiche e vantaggi della presente divulgazione risulteranno evidenti dalla seguente descrizione dettagliata e dagli esempi.

## BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

La FIG. 1 mostra schematicamente l'architettura dello studio per uno studio registrativo di fase 2 multicentro non comparativo che accerta l'efficacia e la sicurezza di nivolumab in monoterapia su pazienti con linfoma di Hodgkin classico (cHL) dopo il fallimento di un trattamento con trapianto di cellule staminali autologhe e brentuximab vedotin.

Le FIGG. 2A-2C mostrano un riepilogo della risposta e del cambiamento del carico tumorale nei pazienti cHL dopo la monoterapia con nivolumab. La FIG. 2A mostra le caratteristiche di risposta in tutti i rispondenti (n=53) in base all'accertamento condotto dall'IRRC. Il 62% dei rispondenti continuava a rispondere al momento dell'analisi (contrassegnata da una freccia nera). Il tempo mediano alla risposta era 2,1 mesi (1,6-5,7 mesi), e la durata mediana della risposta era 7,8 mesi (6,6 mesi - non stimabile). La FIG. 2B mostra l'accertamento condotto dal comitato di revisione radiologica indipendente (IRRC) su tutti i pazienti valutabili per la risposta in termini di migliore cambiamento del carico tumorale dal basale. Tutti i rispondenti tranne uno avevano una riduzione di più di 50% del carico tumorale rispetto al basale, e quel singolo paziente aveva una scansione FDG-PET negativa. La FIG. 2C mostra il cambiamento del carico tumorale nei pazienti trattati con nivolumab oltre la progressione. Dei 9 pazienti analizzati, 6 pazienti mantenevano la riduzione del tumore secondo quanto accertato dai ricercatori.

La FIG. 3 mostra la probabilità di sopravvivenza libera da progressione (PFS) lungo un periodo di 12 mesi in pazienti affetti da cHL e trattati con nivolumab. La PFS mediana era 10 mesi (CI 95% 8,41 mesi - ND). La PFS a 6 mesi era 76,9% (CI 95% 64,9%-85,3%) con un tasso di sopravvivenza globale a 6 mesi di 99%.

La FIG. 4 mostra schematicamente l'architettura dello studio per lo studio di fase 2 a braccio singolo in aperto che accerta la sicurezza e la tollerabilità di nivolumab in monoterapia seguito da nivolumab in combinazione con doxorubicina (25 mg/m<sup>2</sup>), vinblastina (6 mg/m<sup>2</sup>) e dacarbazina (375 mg/m<sup>2</sup>) ("AVD") in cHL in stadio avanzato neodiagnosticati. C significa ciclo (dose al giorno 1 e al giorno 15) ogni 28 giorni di terapia. FU/OBS significa fase di follow-up e osservazione.

#### DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELLA DIVULGAZIONE

L'invenzione rivendicata riguarda nivolumab per l'uso in un metodo di trattamento di un linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato in un soggetto bisognoso, in cui il soggetto è precedentemente non trattato se non con corticosteroidi.

In aggiunta, la presente divulgazione va oltre l'invenzione rivendicata. Ad esempio, essa riguarda anche gli effetti superiori di un anticorpo anti-PD-1 o di un anticorpo anti-PD-L1 nel trattamento di un paziente con linfoma di Hodgkin classico (cHL) che ha ricevuto almeno un trattamento pregresso.

## Termini

Per prima cosa, verranno definiti certi termini che permetteranno di comprendere più facilmente la presente divulgazione. Nel contesto di questa domanda di brevetto, eccetto quando espressamente disposto altrimenti, ciascuno dei seguenti termini assumerà il significato enunciato sotto. Ulteriori definizioni sono enunciate nel corso della  
5 domanda di brevetto.

"Somministrare" significa introdurre fisicamente in un soggetto una composizione comprendente un agente terapeutico usando uno qualsiasi dei vari metodi e sistemi di distribuzione che sono noti agli esperti nel ramo. Le vie di somministrazione per l'anticorpo anti-PD-1 comprendono la via endovenosa, quella intramuscolare, quella sottocutanea, quella intraperitoneale, quella spinale o altre vie di somministrazione parenterale, ad esempio per iniezione o infusione.  
10 Nel presente contesto, l'espressione "somministrazione parenterale" identifica modalità di somministrazione diverse dalla somministrazione enterale e topica, normalmente per iniezione, e comprende, senza limitazioni, iniezioni e infusioni endovenose, intramuscolari, intrarteriali, intratecali, intralinfatiche, intralesionali, intracapsulari, intraorbitali, intracardiache, intradermiche, intraperitoneali, transtracheali, sottocutanee, subcuticulari, intrarticolari, subcapsulari, subaracnoidali, intraspinali, epidurali e intrasternali, come anche l'elettroporazione in vivo. In alcune forme esecutive,  
15 una composizione viene somministrata attraverso una via non parenterale, in alcune forme esecutive per via orale. Altre vie non parenterali comprendono una via di somministrazione topica, epidermica o mucosale, ad esempio la via intranasale, vaginale, rettale, sublinguale o topica. Inoltre, a titolo esemplificativo, la somministrazione può anche essere condotta una volta, una pluralità di volte e/o nell'arco di uno o più periodi di tempo prolungati.

Nel presente contesto, un "evento avverso" (AE) è qualsiasi sintomo, malattia o segno sfavorevole, e  
20 generalmente involontario o indesiderabile (incluso un reperto di laboratorio anormale), che è associato all'uso di un trattamento medico. Ad esempio, un evento avverso può essere associato all'attivazione del sistema immunitario o all'espansione di cellule del sistema immunitario (ad esempio delle cellule T) in risposta ad un trattamento. Un trattamento medico può avere associati uno o più AE, e ogni AE può avere un grado di severità uguale o differente. Il riferimento a metodi in grado di "alterare gli eventi avversi" intende un regime di trattamento che riduce l'incidenza e/o  
25 la severità di uno o più AE associati all'uso di un regime di trattamento differente.

Un "anticorpo" (Ab) comprenderà, senza limitazioni, un'immunoglobulina glicoproteica che si lega specificatamente ad un antigene e che comprende almeno due catene pesanti (H) e due catene leggere (L) intercollegate per mezzo di legami disolfuro, o una sua porzione legante l'antigene. Ciascuna catena H comprende una regione variabile di catena pesante (qui abbreviata  $V_H$ ) e una regione costante di catena pesante. La regione costante della  
5 catena pesante comprende almeno tre domini costanti,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  e  $C_{H3}$ . Ciascuna catena leggera comprende una regione variabile di catena leggera (qui abbreviata  $V_L$ ) e una regione costante di catena leggera. La regione costante della catena leggera comprende un unico dominio costante,  $C_L$ . Le regioni  $V_H$  e  $V_L$  possono essere ulteriormente suddivise in regioni di ipervariabilità, denominate regioni determinanti la complementarità (CDR), che si alternano con regioni più conservate, denominate regioni cornice (FR). Ciascuna delle catene  $V_H$  e  $V_L$  comprende tre CDR e quattro FR, che sono  
10 disposte nel seguente ordine dall'ammino-terminale al carbossi-terminale: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 ed FR4. Le regioni variabili delle catene pesanti e leggere contengono un dominio legante che interagisce con un antigene. Le regioni costanti degli anticorpi possono mediare il legame dell'immunoglobulina a tessuti o fattori dell'ospite, tra cui varie cellule del sistema immunitario (ad esempio le cellule effettrici) e il primo componente (C1q) del sistema del complemento classico.

Un'immunoglobulina può derivare da uno qualsiasi degli isotipi comunemente noti tra cui, ma senza limitazioni, IgA, IgA secretorie, IgG e IgM. Anche le sottoclassi di IgG sono ben note nel ramo e comprendono, ma senza limitazioni, le IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 umane. Il termine "isotipo" identifica la classe o sottoclasse di anticorpi (ad esempio IgM o IgG1) che viene codificata dai geni di regione costante di catena pesante. A titolo d'esempio, il  
15 termine "anticorpo" comprende sia anticorpi esistenti in natura che anticorpi non esistenti in natura; anticorpi monoclonali e policlonali; anticorpi chimerici e umanizzati; anticorpi umani o non umani; anticorpi interamente sintetici; e anticorpi a catena singola. Un anticorpo non umano può essere umanizzato con metodi ricombinanti allo scopo di ridurre la sua immunogenicità nell'uomo. Se non espressamente dichiarato, e a meno che il contesto non indichi altrimenti, il termine "anticorpo" comprende anche un frammento legante l'antigene o una porzione legante  
20 l'antigene di una qualsiasi delle immunoglobuline citate sopra, e comprende un frammento o porzione monovalente e bivalente e un anticorpo a catena singola.

Un "anticorpo isolato" identifica un anticorpo che è sostanzialmente libero da altri anticorpi con specificità antigeniche differenti (ad esempio, un anticorpo isolato che si lega specificatamente a PD-1 è sostanzialmente libero da anticorpi che si legano specificatamente ad antigeni diversi da PD-1). Tuttavia, un anticorpo isolato che si lega specificatamente a PD-1 può cross-reagire con altri antigeni, ad esempio con molecole di PD-1 di specie differenti. Inoltre, un anticorpo isolato può essere sostanzialmente libero da ulteriori materiali cellulari e/o sostanze chimiche.

Il termine "anticorpo monoclonale" (mAb) identifica una preparazione non esistente in natura di molecole anticorpali che mostrano una singola composizione molecolare, ovvero molecole anticorpali le cui sequenze primarie sono essenzialmente identiche e che mostrano una singola specificità di legame e una singola affinità per un particolare epitopo. Un anticorpo monoclonale è un esempio di un anticorpo isolato, e può essere prodotto con tecniche basate sugli ibridomi, tecniche ricombinanti, tecniche transgeniche o altre tecniche note agli esperti nel ramo.

Un "anticorpo umano" (HuMAb) identifica un anticorpo avente regioni variabili in cui sia le [regioni] cornice che le CDR derivano da sequenze immunoglobuliniche della linea germinale umana. Inoltre, se l'anticorpo contiene una regione costante, anche la regione costante deriva da sequenze immunoglobuliniche della linea germinale umana. Gli anticorpi umani della divulgazione possono comprendere residui di amminoacido non codificati da sequenze immunoglobuliniche della linea germinale umana (ad esempio, mutazioni introdotte tramite mutagenesi casuale o sito-specifica in vitro o tramite mutazione somatica in vivo). Nel presente contesto, tuttavia, il termine "anticorpo umano" non intende comprendere anticorpi con sequenze cornice umane su cui sono innestate sequenze di CDR derivate dalla linea germinale di un'altra specie di mammifero, come un topo. I termini "anticorpi umani" e "anticorpi completamente umani" vengono usati come sinonimi.

Un "anticorpo umanizzato" identifica un anticorpo in cui alcuni di, la maggior parte di o tutti gli amminoacidi all'esterno delle CDR di un anticorpo non umano sono rimpiazzati con corrispondenti amminoacidi derivati da immunoglobuline umane. In una forma esecutiva di una forma umanizzata di un anticorpo, alcuni, la maggior parte di o tutti gli amminoacidi all'esterno delle CDR sono stati rimpiazzati con amminoacidi derivati da immunoglobuline umane, mentre alcuni, la maggior parte di o tutti gli amminoacidi all'interno di una o più CDR rimangono invariati. È ammessa la presenza di piccole addizioni, delezioni, inserzioni, sostituzioni o modifiche degli amminoacidi, a

condizione che esse non abroghino la capacità dell'anticorpo di legarsi ad un particolare antigene. Un "anticorpo umanizzato" mantiene una specificità antigenica simile a quella dell'anticorpo originale. In alcune forme esecutive, le CDR di un anticorpo umanizzato contengono CDR di un anticorpo di mammifero non umano. In altre forme esecutive, le CDR di un anticorpo umanizzato contengono CDR di un anticorpo sintetico ingegnerizzato.

5 Un "anticorpo chimerico" identifica un anticorpo in cui le regioni variabili derivano da una certa specie e le regioni costanti derivano da un'altra specie, come un anticorpo in cui le regioni variabili derivano da un anticorpo murino e le regioni costanti derivano da un anticorpo umano.

10 Un anticorpo "anti-antigene" identifica un anticorpo che si lega specificatamente all'antigene. Ad esempio, un anticorpo anti-PD-1 si lega specificatamente a PD-1, mentre un anticorpo anti-CTLA-4 si lega specificatamente a CTLA-4.

Una "porzione legante l'antigene" di un anticorpo (anche denominata " frammento legante l'antigene") identifica uno o più frammenti di un anticorpo che mantengono la capacità di legarsi specificatamente all'antigene legato dall'anticorpo intero.

15 Un "cancro" identifica un ampio gruppo di varie malattie caratterizzate dalla crescita incontrollata di cellule anormali nel corpo. Un "cancro" o "tessuto canceroso" può comprendere un tumore. La divisione e crescita incontrollata delle cellule causa la formazione di tumori maligni che invadono i tessuti limitrofi e che, attraverso il sistema linfatico o la circolazione sanguigna, hanno anche la potenzialità di metastatizzare in siti distanti del corpo. Dopo la metastatizzazione, si può dire che i tumori distali "derivano" dal tumore originale pre-metastatico. Ad esempio, un "tumore derivato da" un linfoma non Hodgkin identifica un tumore che è il risultato di un linfoma non Hodgkin metastatizzato. Poiché il tumore distale deriva dal tumore pre-metastatico, il tumore "derivato da" può anche  
20 comprendere il tumore pre-metastatico nel senso che, ad esempio, un tumore derivato da un linfoma non Hodgkin può comprendere un linfoma non Hodgkin. In alcune forme esecutive, il cancro è un linfoma di Hodgkin (anche identificato come linfoma di Hodgkin, linfoma di Hodgkin classico e cHL).

25 Un "antigene dei linfociti T citotossici-4" (CTLA-4) identifica un recettore immunoinibitorio che appartiene alla famiglia CD28. CTLA-4 viene esclusivamente espresso sulle cellule T in vivo e si lega a due ligandi, CD80 e CD86

(anche denominati rispettivamente B7-1 e B7-2). Nel presente contesto, il termine "CTLA-4" comprende il CTLA-4 umano (hCTLA-4), varianti, isoforme e omologhi di specie di hCTLA-4, e analoghi aventi almeno un epitopo in comune con hCTLA-4. La sequenza completa di hCTLA-4 può essere trovata al numero d'ingresso GenBank AAB59385.

5 Il termine "immunoterapia" identifica il trattamento di un soggetto afflitto da una malattia, o a rischio di contrarre la malattia o di sperimentare una recidiva della malattia, attraverso un metodo che prevede di indurre, potenziare, sopprimere o comunque modificare una risposta immunitaria.

10 Quando un soggetto viene sottoposto a "trattamento" o "terapia", tali termini identificano qualsiasi tipo di intervento o processo condotto sul soggetto, o la somministrazione di un agente attivo al soggetto, con lo scopo di invertire, alleviare, migliorare, inibire, rallentare o prevenire l'esordio, la progressione, lo sviluppo, la severità o la ricomparsa di un sintomo, una complicanza, una condizione o un parametro biochimico che è associato ad una malattia.

15 Nel presente contesto, il termine "PD-L1-positivo" o "PD-L2-positivo" può essere usato in modo intercambiabile con "espressione di PD-L1 e/o PD-L2 di almeno circa 1%". In una forma esecutiva, l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 può essere misurata usando uno qualsiasi dei metodi noti nel ramo. In un'altra forma esecutiva, l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 viene misurata via ibridazione in situ (IHC) automatizzata. Un tumore PD-L1- e/o PD-L2-positivo può dunque avere almeno circa 1%, almeno circa 2%, almeno circa 5%, almeno circa 10% o almeno circa 20%, almeno circa 25%, almeno circa 30%, almeno circa 40%, almeno circa 50%, almeno circa 60%, almeno circa 70%, almeno circa 75%, almeno circa 80%, almeno circa 85%, almeno circa 90%, almeno circa 95% o circa 100% di cellule tumorali che esprimono PD-L1 e/o PD-L2, come misurato via IHC automatizzata. In certe forme esecutive, "PD-L1-positivo" significa che le cellule che esprimono PD-L1 sulla loro superficie cellule sono almeno 100. In altre forme esecutive, "PD-L2-positivo" significa che le cellule che esprimono PD-L2 sulla loro superficie cellule sono almeno 100.

20 La "morte programmata-1" (PD-1) identifica un recettore immunoinibitorio che appartiene alla famiglia CD28. PD-1 viene prevalentemente espresso sulle cellule T già attivate in vivo, e si lega a due ligandi, PD-L1 e PD-L2. Nel presente contesto, il termine "PD-1" comprende il PD-1 umano (hPD-1), varianti, isoforme e omologhi di specie di

hPD-1, e analoghi aventi almeno un epitopo in comune con hPD-1. La sequenza completa di hPD-1 può essere trovata al numero d'ingresso GenBank U64863.

5 Il "ligando per la morte programmata-1" (PD-L1) è uno di due ligandi glicoproteici di superficie cellulare per PD-1 (l'altro essendo PD-L2) che, quando legati a PD-1, sottoregolano l'attivazione delle cellule T e la secrezione delle citochine. Nel presente contesto, il termine "PD-L1" comprende il PD-L1 umano (hPD-L1), varianti, isoforme e omologhi di specie di hPD-L1, e analoghi aventi almeno un epitopo in comune con hPD-L1. La sequenza completa di hPD-L1 può essere trovata al numero d'ingresso GenBank Q9NZQ7.

10 Un "soggetto" comprende qualsiasi animale umano o non umano. Il termine "animale non umano" comprende, ma senza limitazioni, vertebrati, come primati non umani, pecore, cani e roditori, come topi, ratti e porcellini d'india. In alcune forme esecutive, il soggetto è un umano. I termini "soggetto" e "paziente" vengono qui usati in modo intercambiabile.

15 Una "quantità terapeuticamente efficace" o un "dosaggio terapeuticamente efficace" di un farmaco o agente terapeutico è qualsiasi quantità del farmaco che, quando il farmaco viene usato da solo o in combinazione con un altro agente terapeutico, protegge un soggetto dall'esordio di una malattia o promuove la regressione di una malattia, come testimoniato da una diminuzione della severità dei sintomi della malattia, un aumento dei periodi liberi da sintomi della malattia in termini di frequenza e durata, o la prevenzione di una menomazione o disabilità causata dall'afflizione patologica. La capacità di un agente terapeutico di promuovere la regressione di una malattia può essere valutata usando una varietà di metodi noti al professionista esperto, come in soggetti umani durante trial clinici, in sistemi modello animali che sono predittivi dell'efficacia negli umani, o saggiando l'attività dell'agente in saggi in vitro.

20 Nel presente contesto, una "dose subterapeutica" intende una dose di un composto terapeutico (ad esempio un anticorpo) che è più bassa della dose abituale o tipica del composto terapeutico quando somministrato da solo per il trattamento di una malattia iperproliferativa (ad esempio un cancro).

25 A titolo d'esempio, un "agente anticancro" promuove la regressione di un cancro in un soggetto, o impedisce un'ulteriore crescita del tumore. In certe forme esecutive, una quantità terapeuticamente efficace del farmaco promuove la regressione di un cancro fino al punto di eliminare il cancro. L'espressione "promuovere la regressione di un cancro"

significa che la somministrazione di una quantità efficace del farmaco, da solo o in combinazione con un agente anti-neoplastico, riduce la crescita o la dimensione del tumore, necrotizza il tumore, diminuisce la severità di almeno un sintomo della malattia, aumenta la frequenza e la durata dei periodi liberi da sintomi della malattia, o previene una menomazione o disabilità causata dall'afflizione patologica. Inoltre, quando riferiti ad un trattamento, i termini "efficace" ed "efficacia" comprendono sia l'efficacia farmacologica che la sicurezza fisiologica. L'efficacia farmacologica identifica la capacità del farmaco di promuovere la regressione di un cancro nel paziente. La sicurezza fisiologica identifica il livello di tossicità, o altri effetti fisiologici avversi a livello di cellule, organi e/od organismo (effetti avversi), che possono essere addebitati alla somministrazione del farmaco.

A titolo d'esempio, per il trattamento dei tumori, una quantità terapeuticamente efficace di un agente anticancro può inibire la crescita cellulare o la crescita tumorale di almeno circa 10%, almeno circa 20%, almeno circa 30%, almeno circa 40%, almeno circa 50%, almeno circa 60%, almeno circa 70%, almeno circa 80%, almeno circa 90%, almeno circa 95% o circa 100% rispetto a soggetti non trattati o, in certe forme esecutive, rispetto a pazienti trattati con una terapia standard di cura. In altre forme esecutive della divulgazione, la regressione del tumore può essere osservata e può proseguire per un periodo di almeno circa 20 giorni, almeno circa 30 giorni, almeno circa 40 giorni, almeno circa 50 giorni o almeno circa 60 giorni. Nonostante questi indici fondamentali dell'efficacia terapeutica, la valutazione dei farmaci immunoterapici deve anche tenere conto dei "pattern di risposta immuno-correlati".

Un "pattern di risposta immuno-correlato" identifica un pattern di risposta clinica spesso osservato nei pazienti oncologici trattati con agenti immunoterapeutici che producono effetti antitumorali inducendo risposte immunitarie cancro-specifiche o modificando processi immunitari nativi. Questo pattern di risposta è caratterizzato da un effetto terapeutico benefico che segue un aumento iniziale del carico tumorale o la comparsa di nuove lesioni che, nella valutazione degli agenti chemioterapici tradizionali, sarebbero stato classificati come una progressione della malattia e dunque sinonimo di fallimento del farmaco. Di conseguenza, la corretta valutazione degli agenti immunoterapici può richiedere un monitoraggio a lungo termine degli effetti di questi agenti sulla malattia bersaglio.

Una quantità terapeuticamente efficace di un farmaco comprende una "quantità profilatticamente efficace", che è qualsiasi quantità del farmaco che, quando il farmaco viene somministrato da solo o in combinazione con un agente

antineoplastico ad un soggetto a rischio di sviluppare un cancro (ad esempio un soggetto avente una condizione pre-maligna) o a rischio di sperimentare una recidiva del cancro, inibisce lo sviluppo o la recidiva del cancro. In certe forme esecutive, la quantità profilatticamente efficace impedisce completamente lo sviluppo o la recidiva del cancro. "Inibire" lo sviluppo o la recidiva di un cancro significa abbassare il rischio di sviluppo o recidiva del cancro, o impedire completamente lo sviluppo o la recidiva del cancro.

Nel presente contesto, il termine "dose basata sul peso" significa che il calcolo di una dose da somministrare ad un paziente è basato sul peso del paziente. Ad esempio, quando un paziente di peso corporeo 60 kg richiede 3 mg/kg di un anticorpo anti-PD-1, è possibile calcolare e usare la quantità appropriata dell'anticorpo anti-PD-1 (ovvero 180 mg) per la somministrazione.

Quando riferito ad un metodo della divulgazione, l'uso del termine "dose fissa" significa che due o più anticorpi differenti in una singola composizione (ad esempio un anticorpo anti-PD-1 e un anticorpo anti-CTLA-4) sono presenti nella composizione in particolari rapporti (fissi) l'uno rispetto all'altro. In alcune forme esecutive, la dose fissa è basata sul peso (ad esempio in mg) degli anticorpi. In certe forme esecutive, la dose fissa è basata sulla concentrazione (ad esempio in mg/ml) degli anticorpi. In alcune forme esecutive, il rapporto tra mg del primo anticorpo (ad esempio un anticorpo anti-PD-1) e mg del secondo anticorpo (ad esempio un anticorpo anti-CTLA-4) è almeno circa 1:1, circa 1:2, circa 1:3, circa 1:4, circa 1:5, circa 1:6, circa 1:7, circa 1:8, circa 1:9, circa 1:10, circa 1:15, circa 1:20, circa 1:30, circa 1:40, circa 1:50, circa 1:60, circa 1:70, circa 1:80, circa 1:90, circa 1:100, circa 1:120, circa 1:140, circa 1:160, circa 1:180, circa 1:200, circa 200:1, circa 180:1, circa 160:1, circa 140:1, circa 120:1, circa 100:1, circa 90:1, circa 80:1, circa 70:1, circa 60:1, circa 50:1, circa 40:1, circa 30:1, circa 20:1, circa 15:1, circa 10:1, circa 9:1, circa 8:1, circa 7:1, circa 6:1, circa 5:1, circa 4:1, circa 3:1 o circa 2:1. Ad esempio, un rapporto tra un anticorpo anti-PD-1 e un anticorpo anti-CTLA-4 di 3:1 può significare che una fiala può contenere circa 240 mg dell'anticorpo anti-PD-1 e 80 mg dell'anticorpo anti-CTLA-4, o circa 3 mg/ml dell'anticorpo anti-PD-1 e 1 mg/ml dell'anticorpo anti-CTLA-4.

Quando riferito ai metodi e ai dosaggi della divulgazione, l'uso del termine "dose flat" intende una dose che viene somministrata ad un paziente a prescindere dal peso o dall'area di superficie corporea (BSA) del paziente. La dose flat non viene dunque fornita come una dose in mg/kg ma, piuttosto, come una quantità assoluta dell'agente (ad esempio

l'anticorpo anti-PD-1). Ad esempio, una persona di 60 kg e una persona di 100 kg riceveranno la stessa dose dell'anticorpo (ad esempio 240 mg di un anticorpo anti-PD-1).

5 Resterà inteso che l'uso di una particella alternativa (ad esempio "o") significa una, entrambe o qualsiasi combinazione delle alternative. Nel presente contesto, resterà inteso che gli articoli indeterminativi "un" e "uno" identificano "uno o più" di qualsiasi componente citato o elencato.

10 I termini "circa" o "essenzialmente costituito da" identificano un valore o una composizione entro un intervallo accettabile di errore per il particolare valore o la particolare composizione come determinato da una persona di competenza ordinaria nel ramo, detto intervallo dipendendo in parte dal modo in cui il valore viene misurato o determinato, ovvero dai limiti del sistema di misurazione. Ad esempio, secondo la pratica del ramo, "circa" o "essenzialmente costituito da" può significare entro 1 o più di 1 deviazione standard. In alternativa, "circa" o "essenzialmente costituito da" può intendere un intervallo fino a 10% o 20% (ovvero  $\pm 10\%$  o  $\pm 20\%$ ). Ad esempio, circa 3 mg può comprendere un qualsiasi numero tra 2,7 mg e 3,3 mg (10%) o tra 2,4 mg e 3,6 mg (20%). Inoltre, specie con riferimento ai sistemi o processi biologici, i termini possono intendere fino ad un ordine di grandezza o fino a 5 volte un valore. Quando vengono forniti particolari valori o composizioni nella domanda di brevetto e nelle rivendicazioni, se non dichiarato altrimenti, resterà inteso che il significato di "circa" o "essenzialmente costituito da" sarà entro un intervallo di errore accettabile per quel particolare valore o quella particolare composizione.

15 Nel presente contesto, le espressioni "una volta circa alla settimana", "una volta circa ogni due settimane", o altri termini simili che riguardano un intervallo di dosaggio, intendono numeri approssimati. "Una volta circa alla settimana" può comprendere ogni sette giorni  $\pm$  un giorno, ovvero da ogni sei giorni a ogni otto giorni. "Una volta circa ogni due settimane" può comprendere ogni quattordici giorni  $\pm$  tre giorni, ovvero da ogni undici giorni a ogni diciassette giorni. Le approssimazioni applicate agli intervalli di dosaggio, come ad esempio una volta circa ogni tre settimane, una volta circa ogni quattro settimane, una volta circa ogni cinque settimane, una volta circa ogni sei settimane e una volta circa ogni dodici settimane, sono simili. In alcune forme esecutive, un intervallo di dosaggio di una volta circa ogni sei settimane o una volta circa ogni dodici settimane significa che la prima dose può essere somministrata in qualsiasi giorno della prima settimana, e la dose successiva può essere poi somministrata in qualsiasi

giorno rispettivamente della sesta o della dodicesima settimana. In altre forme esecutive, un intervallo di dosaggio di una volta circa ogni sei settimane o una volta circa ogni dodici settimane significa che la prima dose viene somministrata in un particolare giorno della prima settimana (ad esempio lunedì), e la dose successiva viene somministrata nello stesso giorno (ovvero lunedì) rispettivamente della sesta o della dodicesima settimana.

5 Come qui descritto, se non indicato altrimenti, qualsiasi intervallo di concentrazioni, intervallo di percentuali, intervallo di rapporti o intervallo di interi intende comprendere il valore di qualsiasi intero che ricade all'interno dell'intervallo citato e, se appropriato, intende anche comprendere frazioni di tale valore (ad esempio un decimo e un centesimo di un intero).

Vari aspetti della divulgazione vengono descritti in ulteriore dettaglio nelle seguenti sottosezioni.

10 Tabella 1. Elenco delle abbreviazioni

Termine	Definizione
AE	eventi avversi
ASCT	trapianto di cellule staminali autologhe
BMS	Bristol-Myers Squibb
cHL	linfoma non Hodgkin classico
CI	intervallo di confidenza
CR	remissione completa
CT	scansione via tomografia computerizzata (TC)
DOR	durata della risposta
EBV	virus di Epstein-Barr
FDG	fluorodesossiglucosio
IRRC	comitato di revisione radiologica indipendente
kg	chilogrammo
mAb	anticorpo monoclonale

mg	milligrammo
MRI	acquisizione di immagini in risonanza magnetica
N	numero di soggetti o osservazioni
NE	non valutabile
ORR	tasso di risposta globale
OS	sopravvivenza globale
PD	malattia progressiva
PD-1	morte programmata-1
PD-L1	ligando per la morte programmata 1
PD-L2	ligando per la morte programmata 2
PET	tomografia ad emissione di positroni
PFS	sopravvivenza libera da progressione
PR	remissione parziale
QoL	qualità della vita
SAE	evento avverso serio
SCT	trapianto di cellule staminali
SD	malattia stabile
SOP	procedure operative standard
Sogg.	soggetto

#### Metodi della divulgazione

Viene qui descritto un metodo di trattamento di un soggetto afflitto da un tumore derivato da un linfoma di Hodgkin, in cui il soggetto ha ricevuto (ad esempio non ha risposto a) almeno un trattamento pregresso per il linfoma di Hodgkin selezionato dal gruppo costituito da (i) una terapia con cellule staminali autologhe, (ii) brentuximab vedotin, e sia (i) che (ii), in cui il metodo prevede di somministrare al soggetto una quantità terapeuticamente efficace di un

5

anticorpo o sua porzione legante l'antigene che si lega specificatamente ad un recettore PD-1 e che inibisce l'attività di PD-1 ("anticorpo anti-PD-1"), o di un anticorpo o sua porzione legante l'antigene che si lega specificatamente ad un recettore per PD-L1 e che inibisce l'attività di PD-L1 ("anticorpo anti-PD-L1"). Questo metodo non costituisce parte dell'invenzione rivendicata.

5 Viene qui inoltre descritto un metodo per il trattamento di un soggetto afflitto da un tumore derivato da un linfoma di Hodgkin, in cui il soggetto ha ricevuto almeno un trattamento pregresso per il linfoma di Hodgkin selezionato dal gruppo costituito da (i) una terapia con cellule staminali autologhe, (ii) un anticorpo anti-CD30 (ad esempio brentuximab vedotin), e sia (i) che (ii), che prevede di somministrare al soggetto una quantità terapeuticamente efficace di: un anticorpo anti-PD-1 o una sua porzione legante l'antigene, o un anticorpo anti-PD-L1 o una sua porzione  
10 legante l'antigene. Questo metodo non costituisce parte dell'invenzione rivendicata.

In alcune forme esecutive di detti metodi (non rivendicati), il soggetto ha ricevuto almeno due trattamenti pregressi per il linfoma di Hodgkin. In alcune forme esecutive, il trattamento pregresso ricevuto dal paziente era un trapianto di cellule staminali autologhe. In altre forme esecutive, il trattamento pregresso ricevuto dal paziente era un anticorpo anti-CD30, ad esempio brentuximab vedotin. In altre forme esecutive ancora, il paziente ha ricevuto sia un  
15 trapianto di cellule staminali autologhe che un anticorpo anti-CD30, ad esempio brentuximab vedotin, come trattamenti pregressi. In forme esecutive ulteriori, un anticorpo anti-CD30, ad esempio brentuximab vedotin, è stato somministrato simultaneamente al trapianto di cellule staminali autologhe. In alcune forme esecutive, il paziente è stato prima trattato con un trapianto di cellule staminali autologhe e poi trattato con un anticorpo anti-CD30, ad esempio brentuximab  
20 vedotin. In altre forme esecutive, il paziente è stato prima trattato con un anticorpo anti-CD30, ad esempio brentuximab vedotin, e poi trattato con un trapianto di cellule staminali autologhe. Brentuximab vedotin è anche noto come ADCETRIS®.

In particolari forme esecutive di detti metodi (non rivendicati), l'almeno un trattamento pregresso è fallito. In forme esecutive, il soggetto non è riuscito a ottenere una risposta parziale dopo l'almeno un trattamento pregresso. In altre forme esecutive, il soggetto ha sperimentato una recidiva in seguito ad una risposta completa dopo l'almeno un

trattamento pregresso. In altre forme esecutive ancora, il paziente ha sperimentato una malattia progressiva in seguito ad una risposta parziale o malattia stabile dopo l'almeno un trattamento pregresso.

5 In altre forme esecutive, la divulgazione di detti metodi (non rivendicati) comprende un metodo di trattamento di un soggetto afflitto da un tumore derivato da un linfoma di Hodgkin, in cui il soggetto ha ricevuto almeno un trattamento pregresso per il linfoma di Hodgkin selezionato dal gruppo costituito da (i) una terapia con cellule staminali autologhe, (ii) un anticorpo anti-CD30, ad esempio brentuximab vedotin, e sia (i) che (ii), che prevede di: (i) misurare un livello di espressione di PD-L1 sul tumore, in cui il tumore ha un livello di espressione di PD-L1 o PD-L2 di almeno 1%, e (ii) somministrare al soggetto una quantità terapeuticamente efficace di un anticorpo anti-PD-1 o sua porzione legante l'antigene, o di un anticorpo anti-PD-L1 o sua porzione legante l'antigene.

10 L'invenzione rivendicata comprende nivolumab per l'uso in un metodo di trattamento di un linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato in un soggetto precedentemente non trattato se non con corticosteroidi, in cui il soggetto va a ricevere in somministrazione nivolumab prima da solo ad una dose flat di 240 mg ogni 2 settimane per 4 dosi, e poi ad una dose flat di 240 mg in combinazione con doxorubicina, vinblastina e dacarbazina circa ogni 2 settimane per 6 cicli di combinazione, in cui la doxorubicina va somministrata ad una dose di 25 mg/m<sup>2</sup>, la vinblastina va somministrata ad una dose di 6 mg/m<sup>2</sup>, e la dacarbazina va somministrata ad una dose di 375 mg/m<sup>2</sup>. In forme esecutive, l'invenzione rivendicata comprende un metodo di trattamento di un linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato, che prevede di somministrare al soggetto una quantità terapeuticamente efficace di nivolumab in combinazione con doxorubicina, vinblastina e dacarbazina, ma non con bleomicina.

20 A seguire, i metodi della divulgazione, incluso dell'invenzione rivendicata, vengono descritti in maggiore dettaglio con riferimento a certe forme esecutive della divulgazione.

25 In certe forme esecutive della divulgazione, la terapia (ad esempio la somministrazione di un anticorpo anti-PD-1 o un anticorpo anti-PD-L1 e, opzionalmente, di un altro agente anticancro) aumenta efficacemente la durata di sopravvivenza del soggetto. In alcune forme esecutive della divulgazione, la terapia con un anticorpo anti-PD-1 o la terapia con un anticorpo anti-PD-L1 della presente divulgazione aumenta la durata di sopravvivenza del soggetto rispetto a terapie standard di cura (ad esempio una chemioterapia con brentuximab vedotin o AVD). Dopo la

somministrazione di una terapia con un anticorpo anti-PD-1 o con un anticorpo anti-PD-L1, il soggetto affetto da un tumore [derivato da un] linfoma di Hodgkin può mostrare una sopravvivenza globale di almeno circa 10 mesi, almeno circa 11 mesi, almeno circa 12 mesi, almeno circa 13 mesi, almeno circa 14 mesi almeno circa 15 mesi, almeno circa 16 mesi, almeno circa 17 mesi, almeno circa 18 mesi, almeno circa 19 mesi, almeno circa 20 mesi, almeno circa 21 mesi, 5 almeno circa 22 mesi, almeno circa 23 mesi, almeno circa 2 anni, almeno circa 3 anni, almeno circa 4 anni o almeno circa 5 anni dopo la somministrazione.

In altre forme esecutive della divulgazione, la durata di sopravvivenza o la sopravvivenza globale del soggetto viene aumentata di almeno circa 1 mese, almeno circa 2 mesi, almeno circa 3 mesi, almeno circa 4 mesi, almeno circa 5 mesi, almeno circa 6 mesi, almeno circa 7 mesi, almeno circa 8 mesi, almeno circa 9 mesi o almeno circa 1 anno 10 rispetto ad un altro soggetto trattato solo con una terapia standard di cura (ad esempio una chemioterapia con brentuximab vedotin o AVD). In alcune forme esecutive, la sopravvivenza globale viene aumentata di almeno circa 4 mesi, almeno circa 5 mesi, almeno circa 6 mesi, almeno circa 7 mesi, almeno circa 8 mesi, almeno circa 9 mesi, almeno circa 10 mesi, almeno circa 11 mesi, almeno circa 1 anno, almeno circa 18 mesi o almeno circa 2 anni quando il tumore è PD-L1-positivo, rispetto ad un altro soggetto trattato solo con una terapia standard di cura (ad esempio una 15 chemioterapia con brentuximab vedotin o AVD). Ad esempio, la durata di sopravvivenza o la sopravvivenza globale del soggetto viene aumentata di almeno circa 5%, almeno circa 10%, almeno circa 15%, almeno circa 20%, almeno circa 25%, almeno circa 30%, almeno circa 40%, almeno circa 50% o almeno circa 75% rispetto ad un altro soggetto trattato solo con una terapia standard di cura (ad esempio una chemioterapia con brentuximab vedotin o AVD).

In certe forme esecutive della divulgazione, la terapia aumenta efficacemente la durata di sopravvivenza libera 20 da progressione del soggetto. Ad esempio, la sopravvivenza libera da progressione del soggetto trattato con un metodo della divulgazione è almeno circa 1 mese, 2 mesi, 3 mesi, almeno circa 4 mesi, almeno circa 5 mesi, almeno circa 6 mesi, almeno circa 7 mesi, almeno circa 8 mesi, almeno circa 9 mesi, almeno circa 10 mesi, almeno circa 11 mesi, almeno circa 12 mesi, almeno circa 1 anno, almeno circa diciotto mesi, almeno circa 2 anni, almeno circa 3 anni, almeno circa 4 anni o almeno circa 5 anni.

In altre forme esecutive della divulgazione, il soggetto è un paziente umano. In alcune forme esecutive della divulgazione, il soggetto ha ricevuto un'altra terapia oncologica (ad esempio una chemioterapia con brentuximab vedotin), ma è resistente o refrattario a tale altra terapia oncologica. In certe forme esecutive della divulgazione, il soggetto ha un'alterazione genetica nei loci dei ligandi per PD-1. In una forma esecutiva della divulgazione, il soggetto ha un'amplificazione in 9p24.1. In altre forme esecutive della divulgazione, il soggetto è PD-L1-positivo. In alcune forme esecutive della divulgazione, il soggetto è PD-L2-positivo.

Lo stato di PD-L1 o PD-L2 di un tumore (ad esempio un tumore derivato da HL) in un soggetto può essere misurato prima di somministrare qualsiasi composizione o utilizzando qualsiasi metodo qui divulgato. L'espressione di PD-L1 o PD-L2 può essere determinata con uno qualsiasi dei metodi noti nel ramo.

Per accertare l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2, è possibile ottenere un campione di tessuto di test dal paziente bisognoso di terapia. In alternativa, l'accertamento dell'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 può essere eseguito senza ottenere un campione di tessuto di test. In alcune forme esecutive, la selezione di un paziente idoneo prevede di (i) opzionalmente fornire un campione di tessuto di test ottenuto da un paziente con cancro del tessuto, il campione di tessuto di test comprendendo cellule tumorali e/o cellule infiammatorie infiltranti il tumore; e (ii) accertare la proporzione di cellule nel campione di tessuto di test che esprimono PD-L1 e/o PD-L2 sulla superficie delle cellule, [in cui l'idoneità] è basata sul fatto di accertare che la proporzione di cellule nel campione di tessuto di test che esprimono PD-L1 e/o PD-L2 sulla superficie delle cellule è più alto di un livello di soglia predeterminato.

In uno qualsiasi dei metodi che prevedono di misurare l'espressione di PD-L1 in un campione di tessuto di test, tuttavia, resterà inteso che il passaggio che prevede di fornire un campione di tessuto di test ottenuto da un paziente è un passaggio opzionale. Resterà inoltre inteso che, in certe forme esecutive, il passaggio di "misurazione" o "accertamento" per identificare le cellule nel campione di tessuto di test che esprimono PD-L1 sulla superficie delle cellule, o per determinare il numero o la proporzione di tali cellule, viene condotto con un metodo trasformativo che prevede di saggiare l'espressione di PD-L1, ad esempio conducendo un saggio basato sulla reazione a catena della polimerasi con retrotrascrittasi (RT-PCR) o un saggio IHC. Certe altre forme esecutive non prevedono passaggi trasformativi, e l'espressione di PD-L1 viene accertata, ad esempio, esaminando un report dei risultati di test ottenuti in laboratorio. In

certe forme esecutive, i passaggi dei metodi fino all'accertamento dell'espressione di PD-L1, incluso tale accertamento, forniscono un risultato intermedio che potrà essere fornito ad un medico o altro operatore sanitario per l'uso nella selezione di un candidato adatto per la terapia con un anticorpo anti-PD-1 o con un anticorpo anti-PD-L1. In certe forme esecutive, i passaggi che forniscono il risultato intermedio vengono condotti da un medico di base o da qualcuno che agisce sotto la direzione di un medico di base. In altre forme esecutive, questi passaggi vengono condotti da un laboratorio indipendente o da una persona indipendente, come un tecnico di laboratorio.

In certe forme esecutive di uno qualsiasi dei metodi della presente divulgazione, la proporzione di cellule che esprimono PD-L1 viene accertata conducendo un saggio per determinare la presenza dell'RNA di PD-L1. In forme esecutive ulteriori, la presenza dell'RNA di PD-L1 viene determinata via RT-PCR, ibridazione in situ o protezione da RNasi. In altre forme esecutive, la proporzione di cellule che esprimono PD-L1 viene accertata conducendo un saggio per determinare la presenza del polipeptide di PD-L1. In forme esecutive ulteriori, la presenza del polipeptide di PD-L1 viene determinata via immunistochemica (IHC), saggio immunosorbente a legame enzimatico (ELISA), acquisizione di immagini in vivo o flussocitometria. In alcune forme esecutive, l'espressione di PD-L1 viene saggiata via IHC. In altre forme esecutive di tutti questi metodi, l'espressione di PD-L1 sulla superficie delle cellule viene saggiata usando, ad esempio, la IHC o l'acquisizione di immagini in vivo. Chen et al. (2013) Clin. Cancer Res. 19(13):3462-3473.

Le tecniche di acquisizione di immagini hanno fornito strumenti importanti nella ricerca e nel trattamento del cancro. I recenti sviluppi nei sistemi di acquisizione di immagini molecolari, tra cui la tomografia a emissione di positroni (PET), la tomografia computerizzata a emissione di fotoni singoli (SPECT), l'acquisizione di immagini a riflettanza in fluorescenza (FRI), la tomografia mediata da fluorescenza (FMT), l'acquisizione di immagini in bioluminescenza (BLI), la microscopia confocale a scansione laser (LSCM) e la microscopia multifotonica (MPM), fanno probabilmente presagire un uso ancora maggiore di queste tecniche nella ricerca sul cancro. Alcuni di questi sistemi di acquisizione di immagini molecolari permettono ai medici non solo di vedere dove si trova un tumore nel corpo, ma anche di visualizzare l'espressione e l'attività di specifiche molecole, cellule e processi biologici che influenzano il comportamento del tumore e/o la sua responsività a farmaci terapeutici (Condeelis e Weissleder, "In vivo imaging in cancer", Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2(12):a003848 (2010)). La specificità degli anticorpi, unita alla

sensibilità e alla risoluzione della PET, rende l'acquisizione di immagini in immunoPET particolarmente allettante per monitorare e saggiare l'espressione degli antigeni nei campioni di tessuto (McCabe e Wu, "Positive progress in immunoPET-not just a coincidence", *Cancer Biother. Radiopharm.* 25(3):253-61 (2010); Olafsen et al., "ImmunoPET imaging of B-cell lymphoma using 124I-anti-CD20 scFv dimers (diabodies)", *Protein Eng. Des. Sel.* 23(4):243-9 (2010)). In certe forme esecutive di uno qualsiasi dei presenti metodi, l'espressione di PD-L1 viene saggiata mediante acquisizione di immagini in immunoPET. In certe forme esecutive di uno qualsiasi dei metodi della presente divulgazione, la proporzione di cellule in un campione di tessuto di test che esprimono PD-L1 viene accertata conducendo un saggio per determinare la presenza del polipeptide di PD-L1 sulla superficie delle cellule nel campione di tessuto di test. In certe forme esecutive, il campione di tessuto di test è un campione di tessuto FFPE. In altre forme esecutive, la presenza del polipeptide di PD-L1 viene determinata con un saggio IHC. In forme esecutive ulteriori, il saggio IHC viene condotto usando un processo automatizzato. In alcune forme esecutive, il saggio IHC viene condotto usando un anticorpo monoclonale anti-PD-L1 che si lega al polipeptide di PD-L1.

In una forma esecutiva dei metodi della presente divulgazione, l'espressione di PD-L1 sulla superficie delle cellule viene saggiata usando un metodo IHC automatizzato su provini di tessuto FFPE. Questa divulgazione fornisce metodi per rilevare la presenza di un antigene PD-L1 umano in un campione di tessuto di test, o per quantificare il livello di un antigene PD-L1 umano o la proporzione di cellule nel campione che esprimono l'antigene, i quali metodi prevedono di mettere in contatto il campione di test, e un campione di controllo negativo, con un anticorpo monoclonale che si lega specificatamente al PD-L1 umano, in condizioni che permettono la formazione di un complesso tra l'anticorpo o una sua porzione e il PD-L1 umano. In certe forme esecutive, i campioni di tessuto di test e di controllo sono campioni FFPE. Viene poi rilevata la formazione di un complesso, in cui una differenza nella formazione del complesso tra il campione di test e il campione di controllo negativo è indicativa della presenza dell'antigene PD-L1 umano nel campione. Sono vari i metodi usati per quantificare l'espressione di PD-L1.

In una particolare forma esecutiva della divulgazione, il metodo IHC automatizzato prevede di: (a) deparaffinare e reidratare le sezioni di tessuto montate in un coloratore automatico; (b) recuperare l'antigene usando una camera di decloaking e un tampone a pH 6, riscaldando a 110°C per 10 min.; (c) preparare i reagenti in un coloratore

automatico; e (d) azionare il coloratore automatico, il protocollo del coloratore comprendendo i passaggi di neutralizzare la perossidasi endogena nel provino di tessuto; bloccare i siti leganti le proteine aspecifici sui vetrini; incubare i vetrini con l'anticorpo primario; incubare con un agente bloccante post-primario; incubare con NovoLink Polymer; aggiungere un substrato cromogeno e sviluppare; e controcolorare con ematossilina.

5 Per accertare l'espressione di PD-L1 nei campioni di tessuto tumorale, un patologo esamina al microscopio il numero di cellule tumorali di membrana PD-L1<sup>+</sup> in ciascun campo e, dopo aver stimato a mente la percentuale di cellule positive, calcola la media per ottenere la percentuale finale. Le differenti intensità di colorazione sono definite come 0/negativa, 1+/debole, 2+/moderata e 3+/forte. Tipicamente, i valori percentuali vengono assegnati ai bucket 0 e 3+ prima di prendere in considerazione le intensità intermedie 1+ e 2+. Per i tessuti altamente eterogenei, il provino viene  
10 suddiviso in zone, e ciascuna zona viene classificata separatamente e poi combinata in un singolo insieme di valori percentuali. Vengono determinate le percentuali di cellule negative e positive per le differenti intensità di colorazione per ciascuna area e, a ciascuna zona, viene assegnato un valore mediano. Al tessuto viene assegnato un valore percentuale finale per ciascuna categoria di intensità di colorazione: negativo, 1+, 2+ e 3+. La somma di tutte le intensità di colorazione deve essere 100%. In una forma esecutiva, il numero soglia di cellule che devono essere PD-L1-  
15 positive è almeno circa 100, almeno circa 125, almeno circa 150, almeno circa 175 o almeno circa 200 cellule. In certe forme esecutive, il numero soglia di cellule che devono essere PD-L1-positivo è almeno circa 100 cellule.

La colorazione viene anche accertata nelle cellule infiammatorie infiltranti il tumore, come i macrofagi e i linfociti. Nella maggior parte dei casi, i macrofagi agiscono da controllo positivo interno perché una grande proporzione di macrofagi si colora. Benché la colorazione ad intensità 3+ non sia necessaria, l'assenza di colorazione dei macrofagi  
20 andrà presa in considerazione per escludere qualsiasi guasto tecnico. L'accertamento dei macrofagi e dei linfociti serve per la colorazione della membrana plasmatica, e viene registrato solo come positivo o negativo per ciascuna categoria di cellule per tutti i campioni. La colorazione viene anche caratterizzata secondo una designazione cellule immunitarie dentro/fuori rispetto al tumore. "Dentro" significa che la cellula immunitaria si trova all'interno del tessuto tumorale e/o ai confini della regione del tumore senza essere fisicamente intercalata tra le cellule tumorali. "Fuori" significa che non

esistono associazioni fisiche con il tumore, le cellule immunitarie trovandosi nella periferia associata al tessuto connettivo o a qualsiasi tessuto adiacente associato.

In certe forme esecutive di questi metodi di classificazione, i campioni vengono classificati da due patologi che lavorano in maniera indipendente, e i punteggi vengono successivamente consolidati. In certe altre forme esecutive, l'identificazione delle cellule positive e negative viene classificata usando un software appropriato.

Come misura più quantitativa dei dati IHC, viene usato un histoscore [punteggio istologico]. L'histoscore viene calcolato nel seguente modo:

$$\text{Histoscore} = [(\% \text{ tumore} \times 1 \text{ (bassa intensità)}) + (\% \text{ tumore} \times 2 \text{ (intensità media)}) + (\% \text{ tumore} \times 3 \text{ (alta intensità)})]$$

Per determinare l'histoscore, il patologo stima la percentuale di cellule colorate in ciascuna categoria di intensità all'interno di un provino. Poiché l'espressione della maggior parte dei biomarcatori è eterogenea, l'histoscore è una rappresentazione più fedele dell'espressione globale. L'intervallo finale per l'histoscore va da 0 (nessuna espressione) a 300 (espressione massima).

Un mezzo alternativo per quantificare l'espressione di PD-L1 in un campione di tessuto di test IHC prevede di determinare il punteggio di infiammazione aggiustato (AIS), definito come la densità di infiammazione moltiplicata per l'espressione percentuale di PD-L1 da parte delle cellule infiammatorie infiltranti il tumore (Taube et al., "Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape", *Sci. Transl. Med.* 4(127):127ra37 (2012)).

In una forma esecutiva della divulgazione, il livello di espressione di PD-L1 in un tumore (ad esempio un tumore derivato da HL) è almeno circa 1%, almeno circa 2%, almeno circa 3%, almeno circa 4%, almeno circa 5%, almeno circa 6%, almeno circa 7%, almeno circa 8%, almeno circa 9%, almeno circa 10%, almeno circa 11%, almeno circa 12%, almeno circa 13%, almeno circa 14%, almeno circa 15%, almeno circa 20%, almeno circa 25%, almeno circa 30%, almeno circa 40%, almeno circa 50%, almeno circa 60%, almeno circa 70%, almeno circa 75%, almeno circa 80%, almeno circa 85%, almeno circa 90%, almeno circa 95% o circa 100%. In un'altra forma esecutiva, lo stato di PD-L1 in un tumore è almeno circa 1%. In altre forme esecutive, lo stato di PD-L1 nel soggetto è almeno circa 5%.

In una certa forma esecutiva, lo stato di PD-L1 in un tumore è almeno circa 10%. In una forma esecutiva, lo stato di

PD-L1 nel tumore è almeno circa 25%. In una forma esecutiva particolare, lo stato di PD-L1 nel tumore è almeno circa 50%.

5 I metodi della presente divulgazione possono trattare qualsiasi tipo di linfoma di Hodgkin (anche identificato come linfoma di Hodgkin classico). In certe forme esecutive, il linfoma di Hodgkin è un cHL o un linfoma di Hodgkin nodulare a predominanza linfocitaria. In certe forme esecutive, il linfoma di Hodgkin è un linfoma di Hodgkin selezionato dal gruppo costituito da nodulare sclerosante, a cellularità mista, ricco di linfociti, depleto di linfociti, o a predominanza linfocitaria. L'invenzione rivendicata è per il trattamento di un linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato. In certe forme esecutive, il soggetto ha avuto un'infermità o è stato infettato dal virus di Epstein Barr (EBV).

10 I metodi della presente divulgazione possono trattare un linfoma di Hodgkin in qualsiasi stadio. Gli stadi usati per il linfoma di Hodgkin sono almeno quattro: Stadio I, Stadio II, Stadio III e Stadio IV. Nello Stadio I, il cancro è limitato ad un'unica regione linfonodale o ad un singolo organo. Nello Stadio II, il cancro si trova in due regioni linfonodali, o il cancro ha invaso un unico organo, e i linfonodi limitrofi, ma è ancora limitato ad una sezione del corpo sopra o sotto il diaframma. Nello Stadio III, il cancro si è diffuso ai linfonodi sia sopra che sotto il diaframma, e potrà  
15 anche essere presente in una porzione di tessuto o in un organo vicino ai gruppi di linfonodi, o nella milza. Nello Stadio IV, le cellule cancerose occupano diverse porzioni di uno o più tessuti. Il linfoma di Hodgkin allo Stadio IV colpisce non solo i linfonodi ma anche altre parti del corpo, come il fegato, i polmoni o le ossa. Il linfoma di Hodgkin è anche suddiviso nelle categorie "A" e "B". A significa che un soggetto non ha sintomi significativi attribuibili al cancro. B indica che un soggetto potrà avere segni e sintomi significativi, come piressia persistente, calo ponderale non  
20 intenzionale, o sudorazioni notturne severe.

#### Anticorpi anti-PD-1 e anticorpi anti-PD-L1

Gli anticorpi anti-PD-1 adatti per l'uso nei metodi della divulgazione sono anticorpi che si legano a PD-1 con alti valori di specificità e affinità, che bloccano il legame di PD-L1, e che inibiscono l'effetto immunosoppressivo della via di segnalazione di PD-1. In uno qualsiasi dei metodi terapeutici qui divulgati, un "anticorpo" anti-PD-1 o anti-PD-  
25 L1 comprende una porzione legante l'antigene che si lega rispettivamente al recettore PD-1 o a PD-L1 e che mostra

proprietà funzionali simili a quelle degli anticorpi interi in termini di inibizione del legame del ligando e sovraregolazione del sistema immunitario. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 o sua porzione legante l'antigene cross-compete con nivolumab per il legame al PD-1 umano. In altre forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 o suo frammento legante l'antigene compete per il legame con BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736 o MSB0010718C per il legame al PD-L1 umano.

5 In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o l'anticorpo anti-PD-L1, o la porzione legante l'antigene degli stessi, è un anticorpo monoclonale chimerico, umanizzato o umano, o una sua porzione. In certe forme esecutive di trattamento di un soggetto umano, l'anticorpo è un anticorpo umanizzato. In altre forme esecutive della divulgazione per il trattamento di un soggetto umano, l'anticorpo che può essere usato è un anticorpo umano di isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

10 In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o l'anticorpo anti-PD-L1, o la porzione legante l'antigene degli stessi, comprende una regione costante di catena pesante che è di un isotipo IgG1 o IgG4 umano. In certe altre forme esecutive della divulgazione, la sequenza della regione costante della catena pesante di isotipo IgG4 dell'anticorpo anti-PD-1 o dell'anticorpo anti-PD-L1, o delle porzioni leganti l'antigene degli stessi, contiene una mutazione S228P che rimpiazza un residuo di serina nella regione cerniera con il residuo di prolina normalmente incontrato sulla corrispondente posizione negli anticorpi di isotipo IgG1. Questa mutazione, che è presente in nivolumab, impedisce lo scambio di braccio Fab con gli anticorpi di isotipo IgG4 endogeni ma, allo stesso tempo, preserva la bassa affinità per i recettori per Fc attivanti che è associata agli anticorpi di isotipo IgG4 di tipo selvatico (Wang et al., *In vitro* characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and *in vivo* toxicology in non-human primates, *Cancer Imm. Res.*, 2(9):846-56 (2014)). In altre forme esecutive ancora della divulgazione, l'anticorpo comprende una regione costante di catena leggera che è una regione costante kappa o lambda umana. In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o l'anticorpo anti-PD-L1, o la porzione legante l'antigene degli stessi, è un anticorpo monoclonale o una sua porzione legante l'antigene.

20 Il brevetto US 8.008.449 divulga anticorpi monoclonali umani che si legano specificatamente a PD-1 con un'alta affinità. Altri anticorpi monoclonali anti-PD-1 sono stati descritti, ad esempio, nei brevetti US 6.808.710, US

7.488.802, US 8.168.757 e US 8.354.509, e nella pubblicazione PCT WO 2012/145493. È stato dimostrato che ciascuno degli anticorpi monoclonali umani anti-PD-1 divulgati nel brevetto US 8.008.449 presenta una o più delle seguenti caratteristiche: (a) si lega al PD-1 umano con una  $K_D$  di  $1 \times 10^{-7}$  M o meno, come determinato via risonanza plasmonica di superficie usando un sistema biosensore Biacore; (b) non si lega sostanzialmente al CD28, CTLA-4 e/o ICOS umano; 5 (c) aumenta la proliferazione delle cellule T in un saggio della reazione linfocitaria mista (MLR); (d) aumenta la produzione di interferone- $\gamma$  in un saggio MLR; (e) aumenta la secrezione di IL-2 in un saggio MLR; (f) si lega al PD-1 umano e al PD-1 di scimmia cynomolgus; (g) inibisce il legame di PD-L1 e/o PD-L2 a PD-1; (h) stimola risposte di memoria antigene-specifiche; (i) stimola risposte anticorpali; e (j) inibisce la crescita delle cellule tumorali in vivo. Gli anticorpi anti-PD-1 che possono essere usati nella presente divulgazione comprendono anticorpi monoclonali che si 10 legano specificatamente al PD-1 umano e che mostrano almeno una e, in alcune forme esecutive, almeno cinque delle caratteristiche di sopra. In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è nivolumab. In una forma esecutiva della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è pembrolizumab.

L'anticorpo anti-PD-1 secondo l'invenzione rivendicata è nivolumab. Il nivolumab (altresì noto come "OPDIVO®"; già designato 5C4, BMS-936558, MDX-1106 o ONO-4538) è un anticorpo completamente umano di 15 isotipo IgG4 (S228P) che inibisce il checkpoint immunitario PD-1 e che, impedendo selettivamente l'interazione con i ligandi per PD-1 (PD-L1 e PD-L2), blocca la sottoregolazione delle funzioni antitumorali delle cellule T (brevetto US 8.008.449; Wang et al., *In vitro* characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and *in vivo* toxicology in non-human primates, *Cancer Imm. Res.*, 2(9):846-56 (2014)). In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o suo frammento cross-compete con nivolumab. In altre forme esecutive della divulgazione, 20 l'anticorpo anti-PD-1 o suo frammento si lega allo stesso epitopo a cui si lega nivolumab. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse CDR di nivolumab.

In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 (o sua porzione legante l'antigene) cross-compete con pembrolizumab. In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 si lega allo stesso epitopo a cui si lega pembrolizumab. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse 25 CDR di pembrolizumab. In un'altra forma esecutiva della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è pembrolizumab. Il

5 pembrolizumab (altresì noto come "KEYTRUDA<sup>®</sup>", lambrolizumab e MK-3475) è un anticorpo monoclonale umanizzato di isotipo IgG4 che è diretto contro il recettore di superficie cellulare umano PD-1 (morte programmata-1 o morte cellulare programmata-1). Il pembrolizumab è descritto, ad esempio, nei brevetti US 8.354.509 e US 8.900.587; vedere anche <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789> (ultimo accesso: 14 dicembre 2014). Il pembrolizumab è stato approvato dalla FDA per il trattamento del melanoma recidivante o refrattario.

10 In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 (o sua porzione legante l'antigene) cross-compete con MEDI0680. In altre forme esecutive ancora della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 si lega allo stesso epitopo a cui si lega MEDI0680. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse CDR di MEDI0680. In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è MEDI0680 (già AMP-514), che è un anticorpo monoclonale. MEDI0680 è descritto, ad esempio, nel brevetto US 8.609.089B2 o in <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047> (ultimo accesso 14 dicembre 2014).

15 In certe forme esecutive della divulgazione, il primo anticorpo è un antagonista anti-PD-1. Un esempio dell'antagonista anti-PD-1 è AMP-224, che è una proteina di fusione B7-DC - Fc. AMP-224 è discusso nella pubblicazione US N° 2013/0017199 o in <http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=700595> (ultimo accesso 8 luglio 2015).

20 In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 (o sua porzione legante l'antigene) cross-compete con BGB-A317. In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 si lega allo stesso epitopo a cui si lega BGB-A317. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse CDR di BGB-A317. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è BGB-A317, che è un anticorpo monoclonale umanizzato. BGB-A317 è descritto nella pubblicazione US N° 2015/0079109.

In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 (o sua porzione legante l'antigene) cross-compete con INCSHR1210 (SHR-1210). In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 si lega allo stesso epitopo a cui si lega INCSHR1210 (SHR-1210). In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse CDR di INCSHR1210 (SHR-1210). In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è

INCSHR1210 (SHR-1210), che è un anticorpo monoclonale umano. INCSHR1210 (SHR-1210) è descritto in WO2015/085847.

5 In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 (o sua porzione legante l'antigene) cross-competete con REGN-2810. In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 si lega allo stesso epitopo a cui si lega REGN-2810. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse CDR di REGN-2810. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è REGN-2810, che è un anticorpo monoclonale umano. REGN-2810 è descritto in WO2015/112800.

10 In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 (o sua porzione legante l'antigene) cross-competete con PDR001. In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 si lega allo stesso epitopo a cui si lega PDR001. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse CDR di PDR001. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è PDR001, che è un anticorpo monoclonale umanizzato. PDR001 è descritto in WO2015/112900.

15 In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 (o sua porzione legante l'antigene) cross-competete con TSR-042 (ANB011). In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 si lega allo stesso epitopo a cui si lega TSR-042 (ANB011). In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse CDR di TSR-042 (ANB011). In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è TSR-042 (ANB011), che è un anticorpo monoclonale umanizzato. TSR-042 (ANB011) è descritto in WO2014/179664.

20 In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 (o sua porzione legante l'antigene) cross-competete con STI-1110. In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 si lega allo stesso epitopo a cui si lega STI-1110. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 ha le stesse CDR di STI-1110. In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è STI-1110, che è un anticorpo monoclonale umano. STI-1110 è descritto in WO2014/194302.

25 Gli anticorpi anti-PD-1 che possono essere usati nei metodi divulgati comprendono anche anticorpi isolati che si legano specificatamente al PD-1 umano e che cross-competono con nivolumab per il legame al PD-1 umano (vedere ad esempio i brevetti US 8.008.449 e US 8.779.105; WO 2013/173223). La capacità degli anticorpi di cross-competere

per il legame ad un antigene indica che questi anticorpi si legano alla stessa regione epitopica dell'antigene, e ostacolano stericamente il legame di altri anticorpi cross-competitivi a quella particolare regione epitopica. Ci si aspetta che questi anticorpi cross-competitivi abbiano proprietà funzionali molto simili a quelle di nivolumab in virtù del loro legame alla stessa regione epitopica di PD-1. Gli anticorpi cross-competitivi possono essere facilmente identificati in base alla loro capacità di cross-competere con nivolumab in saggi standard di legame a PD-1, come analisi Biacore, saggi ELISA o flussocitometria (vedere ad esempio WO 2013/173223).

In certe forme esecutive, gli anticorpi che cross-competono per il legame al PD-1 umano con nivolumab, o che si legano alla stessa regione epitopica del PD-1 umano a cui si lega nivolumab, sono anticorpi monoclonali. Ai fini della somministrazione a soggetti umani, questi anticorpi cross-competitivi sono anticorpi chimerici o anticorpi umanizzati o umani. Tali anticorpi monoclonali chimerici, umanizzati o umani possono essere preparati e isolati con metodi ben noti nel ramo.

Gli anticorpi anti-PD-1 che possono essere usati nei metodi della divulgazione divulgata comprendono anche porzioni leganti l'antigene degli anticorpi di sopra. È stato ampiamente dimostrato che la funzione di legame all'antigene di un anticorpo può essere espletata da frammenti di un anticorpo a tutta lunghezza. Esempi di frammenti leganti che ricadono nel termine "porzione legante l'antigene" di un anticorpo comprendono (i) un frammento Fab, che è un frammento monovalente costituito dai domini  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  e  $C_{H1}$ ; (ii) un frammento  $F(ab')_2$ , che è un frammento bivalente comprendente due frammenti Fab collegati per mezzo di un ponte disolfuro sulla regione cerniera; (iii) un frammento Fd, che è costituito dai domini  $V_H$  e  $C_{H1}$ ; (iv) un frammento Fv, che è costituito dai domini  $V_L$  e  $V_H$  di un singolo braccio di un anticorpo; o qualsiasi loro combinazione.

Gli anticorpi anti-PD-1 adatti per l'uso nelle composizioni divulgate sono anticorpi che si legano a PD-1 con alti valori di specificità e affinità, che bloccano il legame di PD-L1 e/o PD-L2, e che inibiscono l'effetto immunosoppressivo della via di segnalazione di PD-1. In qualsiasi delle composizioni o dei metodi qui divulgati, un "anticorpo" anti-PD-1 comprende una porzione o frammento legante l'antigene che si lega al recettore PD-1 e che mostra proprietà funzionali simili a quelle degli anticorpi interi in termini di inibizione del legame del ligando e sovraregolazione del sistema immunitario. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 o sua porzione legante

l'antigene cross-compete con nivolumab per il legame al PD-1 umano. In altre forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 o sua porzione legante l'antigene è un anticorpo monoclonale chimerico, umanizzato o umano, o una sua porzione. In certe forme esecutive, l'anticorpo è un anticorpo umanizzato. In altre forme esecutive, l'anticorpo è un anticorpo umano. È possibile usare anticorpi di isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

5 In certe forme esecutive di uno qualsiasi dei metodi terapeutici qui descritti che prevedono di somministrare un anticorpo anti-PD-1, in particolare nell'invenzione rivendicata, l'anticorpo anti-PD-1 è nivolumab. In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è pembrolizumab. In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è scelto dagli anticorpi umani 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 e 5F4 descritti nel brevetto US 8.008.449. In altre forme esecutive ancora della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 è MEDI0608 (già AMP-514) o  
10 AMP-224.

In certe forme esecutive della divulgazione, un anticorpo anti-PD-1 usato nei metodi può essere rimpiazzato con un altro antagonista di PD-1 o anti-PD-L1. Ad esempio, poiché un anticorpo anti-PD-L1 impedisce l'interazione tra PD-1 e PD-L1, esercitando così effetti simili sulla via di segnalazione di PD-1, l'uso di un anticorpo anti-PD-L1 può rimpiazzare l'uso di un anticorpo anti-PD-1 nei metodi qui divulgati. In una forma esecutiva, la presente divulgazione è  
15 dunque diretta ad un metodo di trattamento di un soggetto afflitto da un linfoma di Hodgkin, che prevede di somministrare al soggetto una quantità terapeuticamente efficace di un anticorpo anti-PD-L1. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 è BMS-936559 (già 12A4 o MDX-1105) (vedere ad esempio il brevetto US 7.943.743; WO 2013/173223). In altre forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 è MPDL3280A (altresi noto come RG7446 o atezolizumab) (vedere ad esempio Herbst et al. (2013) J. Clin. Oncol. 31(suppl.):3000. Riassunto; brevetto US  
20 8.217.149), MEDI4736 (anche denominato Durvalumab; Khleif (2013) in: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; 27 settembre-1 ottobre 2013; Amsterdam, Paesi Bassi). In altre forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 è CX-072 (anche denominato CytomX; vedere WO2016/149201). In certe forme esecutive, gli anticorpi che cross-competono per il legame al PD-L1 umano con gli anticorpi anti-PD-L1 identificati sopra, o che si legano alla stessa regione epitopica del PD-L1 umano a cui si legano gli anticorpi anti-PD-L1 identificati sopra, sono anticorpi  
25 monoclonali. Ai fini della somministrazione a soggetti umani, questi anticorpi cross-competitivi possono essere

anticorpi chimerici, o possono essere anticorpi umanizzati o umani. Tali anticorpi monoclonali chimerici, umanizzati o umani possono essere preparati e isolati con metodi ben noti nel ramo. Riassunto 802, vedere il brevetto US 8.779.108 o US 2014/0356353, data deposito 6 maggio 2014) o MSB0010718C (anche denominato Avelumab; vedere US 2014/0341917).

5 Poiché gli anticorpi anti-PD-1 e anti-PD-L1 prendono a bersaglio la stessa via di segnalazione e, in alcuni trial clinici, hanno mostrato livelli di efficacia simili in una varietà di cancro (vedere Brahmer et al. (2012) A Engl. J. Med. 366:2455-65; Topalian et al. (2012a) A Engl. J. Med. 366:2443-54; WO 2013/173223), l'anticorpo anti-PD-1 può essere  
10 sostituito con un anticorpo anti-PD-L1 in uno qualsiasi dei metodi terapeutici qui divulgati. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 è BMS-936559 (già 12A4 o MDX-1105) (vedere ad esempio il brevetto US 7.943.743; WO 2013/173223). In altre forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 è MPDL3280A (altresi noto come RG7446 o atezolizumab) (vedere ad esempio Herbst et al. (2013) J. Clin. Oncol. 31(suppl.):3000. Riassunto; brevetto US 8.217.149) o MEDI4736 (Khleif (2013) in: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; 27 settembre-1  
15 ottobre 2013; Amsterdam, Paesi Bassi. Riassunto 802). In certe forme esecutive, gli anticorpi che cross-competono per il legame al PD-L1 umano con gli anticorpi anti-PD-L1 identificati sopra, o che si legano alla stessa regione epitopica del PD-L1 umano a cui si legano gli anticorpi anti-PD-L1 identificati sopra, sono anticorpi monoclonali. Ai fini della somministrazione a soggetti umani, questi anticorpi cross-competitivi possono essere anticorpi chimerici, o possono essere anticorpi umanizzati o umani. Tali anticorpi monoclonali chimerici, umanizzati o umani possono essere preparati e isolati con metodi ben noti nel ramo.

Terapie di combinazione con anticorpi anti-PD-1 o anti-PD-L1

20 In certe forme esecutive della divulgazione, un anticorpo anti-PD-1 o un anticorpo anti-PD-L1 viene somministrato in combinazione con uno o più altri agenti anticancro. In alcune forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 o l'anticorpo anti-PD-L1 viene inizialmente somministrato in monoterapia per una o più dosi, e viene poi somministrato in combinazione con un agente anticancro aggiuntivo. In alcune forme esecutive, l'altro agente anticancro è qualsiasi agente anticancro qui descritto o noto nel ramo. In certe forme esecutive, l'altro agente anticancro è un anticorpo anti-  
25 CTLA-4. Nell'invenzione rivendicata, l'agente anticancro aggiuntivo è una combinazione di doxorubicina, vinblastina e

dacarbazina. In una forma esecutiva, l'altro agente anticancro è una chemioterapia o una chemioterapia con doppietta a base di platino (PT-DC). In altre forme esecutive, l'agente anticancro è un agente a base di platino (ad esempio cisplatino, carboplatino), un inibitore mitotico (ad esempio paclitaxel, paclitaxel legato ad albumina, docetaxel, taxotere, docecad), un alcaloide della vinca fluorurato (ad esempio vinflunina, javlor), vinorelbina, vinblastina, etoposide o pemetrexed-gemcitabina.

In una forma esecutiva della divulgazione, l'altro agente anticancro è Adcetris (brentuximab vedotin), Ambochlorin (clorambucile), Ambochlorin (clorambucile), Becenum (carmustina), BiCNU (carmustina), Blenoxane (bleomicina), bleomicina, brentuximab vedotin, Carmubris (carmustina), carmustina, clorambucile, Clafen (ciclofosfamide), ciclofosfamide, Cytosan (ciclofosfamide), dacarbazina, doxorubicina cloridrato, DTIC-Dome (dacarbazina), Leukeran (clorambucile), Linfolizin (clorambucile), lomustina, Matulane (procarbazine cloridrato), mecloretamina cloridrato, Mustargen (mecloretamina cloridrato), Neosar (ciclofosfamide), prednisone, procarbazine cloridrato, Velban (vinblastina solfato), Velsar (vinblastina solfato), vinblastina solfato, Vincasar PFS (vincristina solfato) e/o vincristina solfato. In altre forme esecutive, l'altro agente anticancro è qualsiasi combinazione di farmaci [selezionati] da ABVD, ABVE, ABVE-PC, BEACOPP, COPDAC, COPP, COPP-ABV, ICE, MOPP, OEPA, OPPA, STANFORD V e/o VAMP (vedere <http://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/hodgkin-lymphoma>, ultima visita 27 maggio 2016).

Gli agenti anticancro da somministrare in combinazione con nivolumab secondo l'invenzione sono doxorubicina, vinblastina e dacarbazina. In alcune forme esecutive, gli agenti anticancro da somministrare in combinazione con un anticorpo anti-PD-1 o un anticorpo anti-PD-L1 sono doxorubicina, vinblastina e dacarbazina, ma non comprendono bleomicina.

In certe forme esecutive della divulgazione, l'altro agente anticancro è qualsiasi altro agente anticancro noto nel ramo. In alcune forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 o anti-PD-L1 viene somministrato in combinazione con due o più agenti anticancro aggiuntivi. In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo [anti-]PD-1 o [anti-]PD-L1 viene combinato con una resezione chirurgica, una radioterapia e/o un trapianto di cellule staminali.

In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o l'anticorpo anti-PD-L1 può essere combinato con un'altra immunoterapia. In certe forme esecutive, l'immunoterapia che coinvolge il blocco di checkpoint immunitari viene somministrata in monoterapia. In altre forme esecutive, l'immunoterapia che coinvolge il blocco di checkpoint immunitari viene somministrata in combinazione con altre terapie. In alcune forme esecutive, i pazienti con linfoma di Hodgkin possono trarre beneficio dalla combinazione di differenti farmaci immunoterapeutici.

#### Anticorpi anti-CTLA-4

In certe forme esecutive della divulgazione, un anticorpo anti-PD-1 o un anticorpo anti-PD-L1 viene combinato con un anticorpo anti-CTLA-4. Gli anticorpi anti-CTLA-4 utili per la presente combinazione possono legarsi al CTLA-4 umano in modo da interrompere l'interazione di CTLA-4 con un recettore B7 umano. Poiché l'interazione di CTLA-4 con B7 trasduce un segnale responsabile dell'inattivazione delle cellule T che recano il recettore CTLA-4, l'interruzione dell'interazione induce, potenzia o protrae efficacemente l'attivazione di tali cellule T, con il risultato di indurre, potenziare o protrarre una risposta immunitaria.

I brevetti US 6.984.720 e US 7.605.238 divulgano anticorpi monoclonali umani che si legano specificatamente a CTLA-4 con un'alta affinità. Altri anticorpi monoclonali anti-CTLA-4 sono stati descritti, ad esempio, nei brevetti US 5.977.318, US 6.051.227, US 6.682.736 e US 7.034.121. È stato dimostrato che gli anticorpi monoclonali umani anti-CTLA-4 divulgati nei brevetti US 6.984.720 e US 7.605.238 presentano una o più delle seguenti caratteristiche: (a) si legano specificatamente al CTLA-4 umano con un'affinità di legame riflessa da una costante di associazione all'equilibrio ( $K_a$ ), determinata mediante analisi Biacore, di almeno circa  $10^7 M^{-1}$ , circa  $10^9 M^{-1}$  o circa  $10^{10} M^{-1} - 10^{11} M^{-1}$  o più; (n) una costante di associazione cinetica ( $k_a$ ) di almeno circa  $10^3$ , circa  $10^4$  o circa  $10^5 m^{-1} s^{-1}$ ; (c) una costante di dissociazione cinetica ( $k_d$ ) di almeno circa  $10^3$ , circa  $10^4$  o circa  $10^5 m^{-1} s^{-1}$ ; e (d) inibiscono il legame di CTLA-4 a B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86). Gli anticorpi anti-CTLA-4 che possono essere usati nella presente divulgazione comprendono anticorpi monoclonali che si legano specificatamente al CTLA-4 umano e che mostrano almeno uno, almeno due o, in una forma esecutiva, almeno tre delle caratteristiche di sopra. Un anticorpo anti-CTLA-4 clinico esemplificativo è l'anticorpo monoclonale umano 10D1 (ora noto come ipilimumab e commercializzato come

YERVOY®) come divulgato nel brevetto US 6.984.720. Ipilimumab è un anticorpo anti-CTLA-4 per l'uso nei metodi qui divulgati. Un altro anticorpo anti-CTLA-4 che può essere usato nei presenti metodi è tremelimumab.

5 Un anticorpo anti-CTLA-4 clinico esemplificativo che è utile per la combinazione è l'anticorpo monoclonale umano 10D1 (ora noto come ipilimumab e commercializzato come YERVOY®) come divulgato nel brevetto US 6.984.720. Ipilimumab è un anticorpo anti-CTLA-4 per l'uso nei metodi qui divulgati. Ipilimumab è un anticorpo monoclonale completamente umano di isotipo IgG1 che blocca il legame di CTLA-4 ai suoi ligandi B7, stimolando così l'attivazione delle cellule T e migliorando la sopravvivenza globale (OS) nei pazienti con melanoma avanzato.

10 Un altro anticorpo anti-CTLA-4 utile per i presenti metodi è tremelimumab (altresi noto come CP-675.206). Tremelimumab è un anticorpo anti-CTLA-4 monoclonale umano di isotipo IgG2. Tremelimumab è descritto in WO/2012/122444, nella pubblicazione US N° 2012/263677 o nella pubblicazione WO N° 2007/113648 A2.

15 Gli anticorpi anti-CTLA-4 che possono essere usati nei metodi divulgati comprendono anche anticorpi isolati che si legano specificatamente al PD-1 umano e che cross-competono con ipilimumab o tremelimumab per il legame al CTLA-4 umano o si legano alla stessa regione epitopica del CTLA-4 umano a cui si lega ipilimumab o tremelimumab. In certe forme esecutive, gli anticorpi che cross-competono per il legame al CTLA-4 umano con ipilimumab o tremelimumab, o che si legano alla stessa regione epitopica del PD-1 umano a cui si lega ipilimumab o tremelimumab, sono anticorpi comprendenti una catena pesante dell'isotipo IgG1 umano. Ai fini della somministrazione a soggetti umani, questi anticorpi cross-competitivi sono anticorpi chimerici o anticorpi umanizzati o umani. Gli anticorpi anti-CTLA-4 che possono essere usati comprendono anche porzioni leganti l'antigene degli anticorpi di sopra, come frammenti Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd o Fv.

20 Ipilimumab (YERVOY®) è un anticorpo monoclonale completamente umano di isotipo IgG1 che blocca il legame di CTLA-4 ai suoi ligandi B7, stimolando così l'attivazione delle cellule T e migliorando la sopravvivenza globale (OS) nei pazienti con melanoma avanzato (Hodi et al. (2010) N. Engl. J. Med. 363:711-23). La terapia concomitante con nivolumab e ipilimumab in un trial clinico di fase 1 produceva una regressione rapida e profonda dei tumori in una proporzione sostanziale di pazienti con melanoma avanzato, ed era significativamente più efficace dei singoli anticorpi da soli (Wolchok et al. (2013) N. Engl. J. Med. 369(2):122-33; WO 2013/173223).

## Chemioterapia

In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato in combinazione con qualsiasi chemioterapia nota nel ramo. In forme esecutive della divulgazione, incluso dell'invenzione rivendicata, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato in combinazione con doxorubicina, vinblastina e dacarbazina. In alcune forme esecutive della divulgazione, la combinazione di doxorubicina, vinblastina e dacarbazina viene somministrata una volta circa ogni una, due, tre o quattro settimane. In alcune forme esecutive della divulgazione, la doxorubicina viene somministrata ad una dose di circa 10 mg/m<sup>2</sup>-circa 40 mg/m<sup>2</sup>, circa 10 mg/m<sup>2</sup>-circa 30 mg/m<sup>2</sup> o circa 20 mg/m<sup>2</sup>-circa 30 mg/m<sup>2</sup>. In altre forme esecutive, la vinblastina viene somministrata ad una dose da circa 0,1 mg/m<sup>2</sup> a circa 10 mg/m<sup>2</sup>, da circa 1 mg/m<sup>2</sup> a circa 10 mg/m<sup>2</sup> o da circa 5 mg/m<sup>2</sup> a circa 10 mg/m<sup>2</sup>. In alcune forme esecutive, la dacarbazina viene somministrata ad una dose di circa 200 mg/m<sup>2</sup>-circa 500 mg/m<sup>2</sup>, circa 250 mg/m<sup>2</sup>-circa 500 mg/m<sup>2</sup> o circa 300 mg/m<sup>2</sup>-circa 400 mg/m<sup>2</sup>. In alcune forme esecutive, la doxorubicina viene somministrata ad una dose di circa 10 mg/m<sup>2</sup>, circa 15 mg/m<sup>2</sup>, circa 20 mg/m<sup>2</sup>, circa 25 mg/m<sup>2</sup>, circa 30 mg/m<sup>2</sup>, circa 35 mg/m<sup>2</sup>, circa 40 mg/m<sup>2</sup>, circa 45 mg/m<sup>2</sup> o circa 50 mg/m<sup>2</sup>. In alcune forme esecutive, la vinblastina viene somministrata ad una dose di circa 0,1 mg/m<sup>2</sup>, circa 1 mg/m<sup>2</sup>, circa 2 mg/m<sup>2</sup>, circa 3 mg/m<sup>2</sup>, circa 4 mg/m<sup>2</sup>, circa 5 mg/m<sup>2</sup>, circa 6 mg/m<sup>2</sup>, circa 7 mg/m<sup>2</sup>, circa 8 mg/m<sup>2</sup>, circa 9 mg/m<sup>2</sup>, circa 10 mg/m<sup>2</sup>, circa 11 mg/m<sup>2</sup>, circa 12 mg/m<sup>2</sup>, circa 13 mg/m<sup>2</sup>, circa 14 mg/m<sup>2</sup>, circa 15 mg/m<sup>2</sup> o circa 20 mg/m<sup>2</sup>. In alcune forme esecutive, la dacarbazina viene somministrata ad una dose di circa 200 mg/m<sup>2</sup>, circa 225 mg/m<sup>2</sup>, circa 250 mg/m<sup>2</sup>, circa 275 mg/m<sup>2</sup>, circa 300 mg/m<sup>2</sup>, circa 325 mg/m<sup>2</sup>, circa 350 mg/m<sup>2</sup>, circa 375 mg/m<sup>2</sup>, circa 400 mg/m<sup>2</sup>, circa 425 mg/m<sup>2</sup>, circa 450 mg/m<sup>2</sup>, circa 475 mg/m<sup>2</sup> o circa 500 mg/m<sup>2</sup>. In forme esecutive ulteriori, la doxorubicina viene somministrata ad una dose di 25 mg/m<sup>2</sup>, la vinblastina viene somministrata ad una dose di 6 mg/m<sup>2</sup> e la dacarbazina viene somministrata ad una dose di 375 mg/m<sup>2</sup> una volta circa ogni 2 settimane. Secondo l'invenzione, la doxorubicina va somministrata ad una dose di 25 mg/m<sup>2</sup>, la vinblastina va somministrata ad una dose di 6 mg/m<sup>2</sup>, e la dacarbazina va somministrata ad una dose di 375 mg/m<sup>2</sup>. In forme esecutive ancora ulteriori, il soggetto non riceve bleomicina in somministrazione.

In certe forme esecutive della divulgazione, la chemioterapia è una chemioterapia a base di platino. Le chemioterapie a base di platino sono costituite da complessi di coordinazione del platino. In alcune forme esecutive, la

chemioterapia a base di platino è una chemioterapia con doppietta di platino. In una forma esecutiva, la chemioterapia viene somministrata alla dose approvata per la particolare indicazione. In altre forme esecutive, la chemioterapia viene somministrata a qualsiasi dose qui divulgata. In alcune forme esecutive, la chemioterapia a base di platino è cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, satraplatino, picoplatino, nedaplatino, triplatino, lipoplatino o loro combinazioni. In certe  
5 forme esecutive, la chemioterapia a base di platino è qualsiasi altra chemioterapia a base di platino che è nota nel ramo. In alcune forme esecutive, la chemioterapia è l'analogo nucleotidico gemcitabina. In una forma esecutiva, la chemioterapia è un antimetabolita dei folati. In una forma esecutiva, l'antimetabolita dei folati è pemetrexed. In certe forme esecutive, la chemioterapia è un taxano. In altre forme esecutive preferite, il taxano è paclitaxel. In altre forme esecutive, la chemioterapia è un analogo nucleosidico. In una forma esecutiva, l'analogo nucleosidico è gemcitabina. In  
10 alcune forme esecutive, la chemioterapia è qualsiasi altra chemioterapia nota nel ramo. Certe forme esecutive prevedono di somministrare almeno uno, almeno due o più agenti chemioterapici in combinazione con l'anticorpo anti-PD-1. In alcune forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato in combinazione con gemcitabina e cisplatino. In alcune forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato in combinazione con pemetrexed e cisplatino. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato in combinazione con gemcitabina e  
15 pemetrexed. In una forma esecutiva, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato in combinazione con paclitaxel e carboplatino. Una forma esecutiva prevede inoltre di somministrare un anticorpo anti-CTLA-4.

#### Composizioni farmaceutiche e dosaggi

Gli agenti terapeutici della presente divulgazione possono essere formulati in una composizione, ad esempio una composizione farmaceutica, che contiene un anticorpo e un trasportatore farmaceuticamente accettabile. Nel  
20 presente contesto, un "trasportatore farmaceuticamente accettabile" comprende qualsiasi e tutti i solventi, mezzi disperdenti, rivestimenti, agenti antibatterici e antimicotici, agenti isotonici, agenti di ritardo dell'assorbimento e simili che sono fisiologicamente compatibili. In una forma esecutiva, il trasportatore per una composizione contenente un anticorpo è adatto per la somministrazione endovenosa, intramuscolare, sottocutanea, parenterale, spinale o epidermica (ad esempio per iniezione o infusione), mentre il trasportatore per alcune composizioni è adatto per una  
25 somministrazione non parenterale, ad esempio per la somministrazione orale. Una composizione farmaceutica della

divulgazione può comprendere uno o più sali farmaceuticamente accettabili, antiossidanti, trasportatori acquosi o non acquosi e/o adiuvanti, come conservanti, agenti bagnanti, agenti emulsionanti e agenti disperdenti.

I regimi di dosaggio sono regolati per fornire la risposta desiderata ottimale, ad esempio una risposta terapeutica massima e/o effetti avversi minimi. In alcune forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o sua porzione legante l'antigene viene somministrato come una dose basata sul peso. Per la somministrazione di un anticorpo anti-PD-1 ad una dose basata sul peso, in monoterapia o in combinazione con un altro agente anticancro, il dosaggio può variare da circa 0,01 mg/kg a circa 20 mg/kg, da circa 0,1 mg/kg a circa 10 mg/kg, da circa 0,1 mg/kg a circa 5 mg/kg, da circa 1 mg/kg a circa 5 mg/kg, da circa 2 mg/kg a circa 5 mg/kg, da circa 7,5 mg/kg a circa 12,5 mg/kg o da circa 0,1 mg/kg a circa 30 mg/kg di peso corporeo del soggetto. Ad esempio, i dosaggi possono essere circa 0,1 mg/kg, circa 0,3 mg/kg, circa 1 mg/kg, circa 2 mg/kg, circa 3 mg/kg, circa 5 mg/kg o circa 10 mg/kg peso corporeo, o circa 0,3 mg/kg, circa 1 mg/kg, circa 2 mg/kg, circa 3 mg/kg o circa 5 mg/kg peso corporeo. Il programma di dosaggio è tipicamente progettato per ottenere esposizioni che inducono un'occupazione dei recettori (RO) prolungata in base alle tipiche proprietà farmacocinetiche di un anticorpo. Un regime di trattamento esemplificativo prevede di somministrare una volta circa alla settimana, una volta circa ogni 2 settimane, una volta circa ogni 3 settimane, una volta circa ogni 4 settimane, una volta circa al mese, una volta circa ogni 3-6 mesi, o più. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-PD-1, come nivolumab, viene somministrato al soggetto una volta circa ogni 2 settimane. In altre forme esecutive, l'anticorpo viene somministrato una volta circa ogni 3 settimane. Il dosaggio e il programma possono variare durante un ciclo di trattamento. Ad esempio, un programma di dosaggio per un anti-PD-1 in monoterapia può prevedere di somministrare l'anticorpo: (i) circa ogni 2 settimane in cicli di circa 6 settimane; (ii) circa ogni 4 settimane per circa sei dosaggi, poi circa ogni tre mesi; (iii) circa ogni 3 settimane; (iv) circa 3 mg/kg - circa 10 mg/kg una volta, poi circa 1 mg/kg circa ogni 2-3 settimane. Considerando che un anticorpo di isotipo IgG4 ha tipicamente un'emivita di 2-3 settimane, un regime di dosaggio per un anticorpo anti-PD-1 della divulgazione comprende da almeno circa 0,3 mg/kg ad almeno circa 10 mg/kg peso corporeo, da almeno circa 1 mg/kg ad almeno circa 5 mg/kg peso corporeo o da almeno circa 1 mg/kg ad almeno circa 3 mg/kg peso corporeo tramite somministrazione endovenosa, con l'anticorpo che viene dato circa ogni 14-21 giorni in cicli di massimo circa 6 settimane o circa 12 settimane, fino a raggiungere una

condizione di risposta completa o malattia progressiva confermata. In certe forme esecutive, un anti-PD-1 in monoterapia viene somministrato a 3 mg/kg ogni 2 settimane fino alla progressione della malattia o fino al raggiungimento di una tossicità inaccettabile. In alcune forme esecutive, il trattamento basato su anticorpi, o qualsiasi trattamento di combinazione qui divulgato, viene proseguito per almeno circa 1 mese, almeno circa 3 mesi, almeno  
5 circa 6 mesi, almeno circa 9 mesi, almeno circa 1 anno, almeno circa 18 mesi, almeno circa 24 mesi, almeno circa 3 anni, almeno circa 5 anni o almeno circa 10 anni.

Quando usato in combinazione con altri agenti anticancro, il dosaggio di un anticorpo anti-PD-1 può essere abbassato rispetto alla dose in monoterapia. I dosaggi di nivolumab che sono più bassi della dose tipica di 3 mg/kg, ma non più bassi di 0,001 mg/kg, sono dosaggi subterapeutici. Le dosi subterapeutiche di un anticorpo anti-PD-1 usato nei  
10 qui presenti metodi sono più alte di 0,001 mg/kg e più basse di 3 mg/kg. In alcune forme esecutive, una dose subterapeutica è circa 0,001 mg/kg - circa 1 mg/kg, circa 0,01 mg/kg - circa 1 mg/kg, circa 0,1 mg/kg - circa 1 mg/kg, o circa 0,001 mg/kg - circa 0,1 mg/kg peso corporeo. In alcune forme esecutive, la dose subterapeutica è almeno circa 0,001 mg/kg, almeno circa 0,005 mg/kg, almeno circa 0,01 mg/kg, almeno circa 0,05 mg/kg, almeno circa 0,1 mg/kg, almeno circa 0,5 mg/kg o almeno circa 1,0 mg/kg peso corporeo. I dati sull'occupazione dei recettori per 15 soggetti che  
15 avevano ricevuto un dosaggio di nivolumab tra 0,3 mg/kg e 10 mg/kg indicano che l'occupazione di PD-1 sembra essere indipendente dalla dose in questo intervallo di dosi. A tutte le dosi, il tasso medio di occupazione era 85% (intervallo da 70% a 97%), con un'occupazione media al plateau di 72% (intervallo da 59% a 81%). In alcune forme esecutive, un dosaggio di 0,3 mg/kg può permettere un'esposizione sufficiente a massimizzare l'attività biologica. I dati sull'occupazione dei recettori per 15 soggetti che avevano ricevuto un dosaggio di nivolumab tra 0,3 mg/kg e 10 mg/kg  
20 indicano che l'occupazione di PD-1 sembra essere indipendente dalla dose in questo intervallo di dosi. A tutte le dosi, il tasso medio di occupazione era 85% (intervallo da 70% a 97%), con un'occupazione media al plateau di 72% (intervallo da 59% a 81%) (Brahmer et al. (2010) J. Clin. Oncol. 28:3167-75). Segnatamente, un dosaggio di 0,3 mg/kg può permettere un'esposizione sufficiente a massimizzare l'attività biologica.

Benché nivolumab in monoterapia sia stato dosato a livelli più alti, fino a circa 10 mg/kg ogni due settimane,  
25 senza raggiungere la dose massima tollerata (MTD), le tossicità significative riportate in altri trial sugli inibitori di

checkpoint in combinazione con una terapia antiangiogenica (vedere ad esempio Johnson et al. (2013) *Cancer Immunol. Res.* 1:373-77; Rini et al. (2011) *Cancer* 117:758-67) supportano la selezione di una dose di nivolumab più bassa di 10 mg/kg.

5 In certe forme esecutive della divulgazione, la dose di un anticorpo anti-PD-1 (o di un anticorpo anti-PD-L1) in una composizione farmaceutica è una dose fissa. In altre forme esecutive della divulgazione, il metodo della presente divulgazione può essere usato con una dose flat (una dose data ad un paziente a prescindere dal peso corporeo del paziente). In forme esecutive della divulgazione, la dose flat dell'anticorpo anti-PD-1 o della sua porzione legante l'antigene è almeno circa 100 mg, 120 mg, 140 mg, 160 mg, 180 mg, 200 mg, 220 mg, 240 mg, 260 mg, 280 mg, 300 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 560 mg o 600 mg. Ad esempio, una dose flat di nivolumab può essere circa 240 mg. Ad esempio, una dose flat di pembrolizumab può essere circa 200 mg. In alcune forme esecutive della divulgazione, incluso dell'invenzione rivendicata, l'anticorpo anti-PD-1 o sua porzione legante l'antigene viene somministrato ad una dose di circa 240 mg. In altre forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o sua porzione legante l'antigene viene somministrato ad una dose di circa 360 mg. In forme esecutive ulteriori della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o sua porzione legante l'antigene viene somministrato ad una dose di circa 480 mg. In forme esecutive della divulgazione, la dose flat dell'anticorpo anti-PD-1 o della sua porzione legante l'antigene viene somministrata una volta circa ogni settimana, ogni due settimane, ogni tre settimane, ogni quattro settimane, ogni cinque settimane o ogni sei settimane. In una forma esecutiva della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o un suo frammento legante l'antigene viene somministrato a 360 mg una volta ogni 3 settimane. In un'altra forma esecutiva della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 o un suo frammento legante l'antigene viene somministrato a 480 mg una volta ogni 4 settimane. Secondo l'invenzione, il soggetto va a ricevere in somministrazione nivolumab prima da solo ad una dose flat di 240 mg ogni 2 settimane per 4 dosi, e poi ad una dose flat di 240 mg in combinazione con doxorubicina, vinblastina e dacarbazina circa ogni 2 settimane per 6 cicli di combinazione, in cui la doxorubicina va somministrata ad una dose di 25 mg/m<sup>2</sup>, la vinblastina va somministrata ad una dose di 6 mg/m<sup>2</sup>, e la dacarbazina va somministrata ad una dose di 375 mg/m<sup>2</sup>.

Ipilimumab (YERVOY®) è approvato per il trattamento del melanoma ad una dose di 3 mg/kg data per endovena una volta ogni 3 settimane per 4 dosi. Segnatamente, benché il dosaggio più alto di ipilimumab usato in combinazione con l'anticorpo anti-PD-1 in alcune forme esecutive della divulgazione sia circa 3 mg/kg, certe forme esecutive della divulgazione possono prevedere di dosare un anticorpo anti-CTLA-4, come ipilimumab, nell'intervallo tra circa 0,3 mg/kg e circa 10 mg/kg, tra circa 0,5 mg/kg e circa 10 mg/kg, tra circa 0,5 mg/kg e circa 5 mg/kg o tra circa 1 mg/kg e circa 5 mg/kg peso corporeo circa ogni due o tre settimane quando combinato con nivolumab. In altre forme esecutive della divulgazione, ipilimumab viene somministrato secondo un programma di dosaggio differente rispetto a nivolumab. In alcune forme esecutive della divulgazione, ipilimumab viene somministrato circa ogni settimana, circa ogni due settimane, circa ogni tre settimane, circa ogni 4 settimane, circa ogni cinque settimane, circa ogni sei settimane, circa ogni sette settimane, circa ogni otto settimane, circa ogni nove settimane, circa ogni dieci settimane, circa ogni undici settimane, circa ogni dodici settimane o circa ogni quindici settimane. I dosaggi di ipilimumab che sono più bassi della dose tipica di 3 mg/kg ogni 3 settimane, ma non più bassi di 0,001 mg/kg, sono dosaggi subterapeutici. Le dosi di un anticorpo anti-CTLA-4 usati nei qui presenti metodi sono più alte di 0,001 mg/kg e più basse di 3 mg/kg. In alcune forme esecutive della divulgazione, una dose di un anticorpo anti-CTLA-4 è circa 0,001 mg/kg - circa 1 mg/kg, circa 0,01 mg/kg - circa 1 mg/kg, circa 0,1 mg/kg - circa 1 mg/kg, o circa 0,001 mg/kg - circa 0,1 mg/kg peso corporeo. In alcune forme esecutive della divulgazione, la dose di un anticorpo anti-CTLA-4 è almeno circa 0,001 mg/kg, almeno circa 0,005 mg/kg, almeno circa 0,01 mg/kg, almeno circa 0,05 mg/kg, almeno circa 0,1 mg/kg, almeno circa 0,5 mg/kg o almeno circa 1,0 mg/kg peso corporeo. In alcune forme esecutive della divulgazione, benché nivolumab sia tollerato fino a 10 mg/kg quando dato per endovena ogni 2 settimane, le dosi dell'anticorpo anti-PD-1 non eccedono circa 3 mg/kg quando in combinazione con ipilimumab. In certe forme esecutive della divulgazione, in base ad accertamenti dei rischi-benefici e accertamenti PK-PD, il dosaggio utile per i metodi divulgati comprende una combinazione di nivolumab a circa 1 mg/kg più ipilimumab a circa 3 mg/kg, nivolumab a circa 3 mg/kg più ipilimumab a circa 1 mg/kg, o nivolumab a circa 3 mg/kg più ipilimumab a circa 3 mg/kg, ciascuna combinazione essendo somministrata ad una frequenza di dosaggio di una volta circa ogni 2-4 settimane e, in certe forme esecutive, di una volta circa ogni 2 settimane o una volta circa ogni 3 settimane. In alcune altre forme esecutive

della divulgazione, nivolumab viene somministrato ad un dosaggio di circa 0,1 mg/kg, circa 0,3 mg/kg, circa 1 mg/kg, circa 2 mg/kg, circa 3 mg/kg o circa 5 mg/kg in combinazione con ipilimumab somministrato ad un dosaggio di circa 0,1 mg/kg, circa 0,3 mg/kg, circa 1 mg/kg, circa 2 mg/kg, circa 3 mg/kg o circa 5 mg /kg, una volta circa ogni 2 settimane, una volta circa ogni 3 settimane o una volta circa ogni 4 settimane.

5 In certe forme esecutive della divulgazione, la combinazione anticorpo anti-PD-1 più anticorpo anti-CTLA-4 viene somministrata per endovena al soggetto in una fase di induzione circa ogni 2 o 3 settimane per 1, 2, 3 o 4 somministrazioni. In certe forme esecutive, la combinazione nivolumab più ipilimumab viene somministrata per endovena nella fase di induzione circa ogni 2 settimane o circa ogni 3 settimane per circa 4 amministrazioni. La fase di induzione è seguita da una fase di mantenimento durante la quale il soggetto riceve in somministrazione solo l'anticorpo  
10 anti-PD-1 ad un dosaggio di circa 0,1 mg/kg, circa 0,3 mg/kg, circa 1 mg/kg, circa 2 mg/kg, circa 3 mg/kg, circa 5 mg/kg o circa 10 mg/kg circa ogni due o tre settimane, fintanto che il trattamento si dimostra efficace o fino a raggiungere una condizione di tossicità ingestibile o progressione della malattia. In certe forme esecutive, durante la fase di mantenimento, nivolumab viene somministrato ad una dose di circa 3 mg/kg [peso] corporeo ogni 2 settimane.

15 In certe forme esecutive della divulgazione, l'anticorpo anti-PD-1 e l'anticorpo anti-CTLA-4 sono formulati in una singola composizione in cui la dose dell'anticorpo anti-PD-1 e la dose dell'anticorpo anti-CTLA-4 sono combinate in una dose fissa ad un rapporto di 1:50, 1:40, 1:30, 1:20, 1:10, 1:5, 1:3, 1:1, 3:1, 5:1, 10:1, 20:1, 30:1, 40:1 o 50:1. In certe forme esecutive, la dose dell'anticorpo anti-CTLA-4 è una dose flat che viene data ad un paziente a prescindere dal suo peso corporeo. In alcune forme esecutive, la dose flat dell'anticorpo anti-CTLA-4 è almeno circa 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 120 mg, 140 mg, 160 mg, 180 mg o 200 mg. In una specifica forma esecutiva, la  
20 dose flat dell'anticorpo anti-CTLA-4 è circa 80 mg.

Per la combinazione di nivolumab con altri agenti anticancro, questi agenti vengono somministrati ai loro dosaggi approvati. Il trattamento viene proseguito fintanto che viene osservato un beneficio clinico, o fino a quando la tossicità non diventa ingestibile o la malattia non progredisce. Tuttavia, in certe forme esecutive, i dosaggi di questi agenti anticancro somministrati sono significativamente più bassi del dosaggio approvato, nel senso che l'agente che  
25 viene somministrato in combinazione con l'anticorpo anti-PD-1 viene dato ad un dosaggio sub-terapeutico. L'anticorpo

anti-PD-1 può essere somministrato al dosaggio dimostratosi in grado di produrre l'efficacia più alta come monoterapia in trial clinici, ad esempio circa 3 mg/kg di nivolumab somministrati una volta circa ogni tre settimane (Topalian et al. (2012a) N. Engl. J. Med. 366:2443-54; Topalian et al. (2012b) Curr. Opin. Immunol. 24:207-12) o ad una dose significativamente più bassa, ovvero ad una dose subterapeutica. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato a circa 3 mg/kg una volta circa ogni due settimane.

Il dosaggio e la frequenza variano a seconda dell'emivita dell'anticorpo nel soggetto. In generale, gli anticorpi umani mostrano l'emivita più lunga, seguiti dagli anticorpi umanizzati, dagli anticorpi chimerici e dagli anticorpi non umani. Il dosaggio e la frequenza di somministrazione possono variare a seconda della natura - profilattica o terapeutica - del trattamento. Nelle applicazioni profilattiche, il dosaggio è relativamente basso, e viene tipicamente somministrato ad intervalli relativamente infrequenti per un lungo periodo di tempo. Alcuni pazienti continuano a ricevere il trattamento per il resto della loro vita. Talvolta, nelle applicazioni terapeutiche, è necessario un dosaggio relativamente alto a intervalli relativamente brevi fino a ridurre o arrestare la progressione della malattia, o fino a quando il paziente non mostra un miglioramento parziale o completo dei sintomi della malattia. A quel punto, il paziente può ricevere la somministrazione di un regime profilattico.

I livelli effettivi di dosaggio dello o degli ingredienti attivi contenuti nelle composizioni farmaceutiche della presente divulgazione possono essere variati in modo da ottenere una quantità dell'ingrediente attivo che è efficace per ottenere la risposta terapeutica desiderata per un particolare paziente, una particolare composizione e una particolare modalità di somministrazione, senza essere eccessivamente tossica per il paziente. Il livello di dosaggio selezionato dipenderà da una varietà di fattori farmacocinetici, tra cui l'attività delle particolari composizioni impiegate nella presente divulgazione, la via di somministrazione, il tempo di somministrazione, la velocità di escrezione del particolare composto impiegato, la durata del trattamento, l'uso di altri farmaci, composti e/o materiali in combinazione con le particolari composizioni impiegate, l'età, il sesso, il peso, la condizione, lo stato di salute generale e la storia medica pregressa del paziente trattato, e fattori simili che sono ben noti nelle arti mediche. Una composizione della presente divulgazione può essere somministrata attraverso una o più vie di somministrazione usando uno o più di una varietà di

metodi ben noti nel ramo. Come saprà il tecnico esperto, la via e/o la modalità di somministrazione varieranno a seconda dei risultati desiderati.

#### Kit

5 L'ambito della presente divulgazione abbraccia anche kit comprendenti un anticorpo anti-PD-1, e  
opzionalmente un altro agente anticancro, per usi terapeutici. I kit comprendono tipicamente un'etichetta che indica  
l'uso previsto del contenuto del kit, e istruzioni per l'uso. Il termine etichetta comprende qualsiasi materiale, scritto o  
registrato, che è fornito su o con il kit o che comunque accompagna il kit. Pertanto, questa divulgazione fornisce un kit  
per trattare un soggetto afflitto da un linfoma di Hodgkin, il kit comprendendo: (a) qualsiasi dosaggio qui descritto di un  
10 agente anticancro che è un anticorpo o una sua porzione legante l'antigene che si lega specificamente al recettore PD-1 e  
che inibisce l'attività di PD-1; e, opzionalmente, (b) istruzioni per l'uso dell'anticorpo anti-PD-1 in uno qualsiasi dei  
metodi di terapia qui divulgati. In alcune forme esecutive, il kit contiene, opzionalmente, uno o più altri agenti  
anticancro (ad esempio doxorubicina, vinblastina e dacarbazina) e le istruzioni per l'uso di tale/tali agenti. In alcune  
forme esecutive, il kit comprende un passaggio aggiuntivo tra (a) e (b): istruzioni per determinare l'espressione di PD-  
15 L1 e/o PD-L2 nel tumore. In alcune forme esecutive, il kit comprende un agente per determinare l'espressione di PD-L1  
e/o PD-L2 nel tumore. In una forma esecutiva, l'espressione di PD-L1 e/o PD-L2 viene misurata con un anticorpo anti-  
PD-L1 e/o PD-L2 o con una sua porzione legante l'antigene. Il kit per l'uso in un metodo di trattamento di un linfoma di  
Hodgkin classico neodiagnosticato secondo l'invenzione comprende: (a) un dosaggio di nivolumab; e (b) un dosaggio di  
doxorubicina, vinblastina e dacarbazina.

La presente divulgazione viene ulteriormente illustrata dai seguenti esempi.

#### 20 ESEMPI

##### ESEMPIO 1 (esempio di riferimento)

Trattamento di un cHL con nivolumab in monoterapia dopo il fallimento di un trapianto di cellule staminali autologhe  
(ASCT) seguito da brentuximab vedotin

25 In uno studio di fase 2, sono state determinate l'efficacia e la sicurezza di nivolumab in monoterapia su pazienti  
con cHL dopo il fallimento di un ASCT seguito da brentuximab vedotin. L'endpoint primario dello studio comprendeva

il tasso di risposta oggettiva (ORR) come accertato dal comitato di revisione radiologica indipendente (IRRC). Gli endpoint secondari comprendevano 1) la remissione completa (CR), la remissione parziale (PR) e la durata della risposta (DOR) come accertate dall'IRRC; 2) l'ORR e la DOR come accertati dai ricercatori; 3) la sicurezza; e 4) la qualità della vita (QoL).

## 5 Metodi

### Architettura dello studio

Lo studio faceva parte di uno studio registrativo di fase 2 multicorte e multicentro non comparativo in corso su pazienti con cHL provenienti da 34 centri di studio in Europa, Canada e Stati Uniti.

10 Come mostrato nella FIG. 1, i criteri chiave di inclusione comprendevano 1) trattamento pregresso con ASCT seguito da brentuximab vedotin; e 2) (i) mancato raggiungimento di più di una PR dopo il trattamento più recente, (ii) recidiva dopo una CR, o (iii) malattia progressiva (PD) dopo una PR o malattia stabile (SD).

15 I pazienti che soddisfacevano i criteri di inclusione di sopra ricevevano nivolumab ogni 2 settimane ad un dosaggio di 3 mg/kg. Il trattamento proseguiva fino alla progressione della malattia o fino al raggiungimento di una tossicità inaccettabile. In qualsiasi momento, i pazienti potevano scegliere di interrompere il trattamento con nivolumab e procedere con un trapianto di cellule staminali ematopoietiche (SCT) (vedere la FIG. 1).

### Accertamento

I pazienti sono stati sottoposti ad accertamenti per valutare l'efficacia, la sicurezza e la qualità della vita (QoL) associate al trattamento con nivolumab.

20 L'efficacia è stata determinata accertando la risposta del tumore secondo i criteri IWG del 2007. Durante il primo anno, la risposta del tumore è stata misurata via CT o MRI al basale e alle Settimane 9, 17, 25, 37 e 49. Successivamente, la risposta del tumore è stata misurata ogni 16 settimane fino alla Settimana 97. Dopo la Settimana 97, la risposta è stata misurata ogni 26 settimane. Inoltre, al basale e alle Settimane 17 e 25, è stata condotta una scansione FDG-PET.

La sicurezza è stata determinata accertando tutti gli eventi avversi (AE) avvenuti a seguito del trattamento. Gli eventi avversi sono stati classificati in base alla loro severità, e comprendevano: astenia, reazione correlata all'infusione, rash, piresia, artralgia, nausea, diarrea, prurito e polmonite (vedere la Tabella 4).

La qualità della vita è stata determinata usando il questionario EQ-5D e il Questionnaire-Core 30 dell'Organizzazione europea per la ricerca e il trattamento del cancro (EORTC QLQ-C30).

#### Analisi statistica

La dimensione inizialmente pianificata per il campione dello studio era 60 pazienti, una dimensione in grado di fornire un potere di rigetto di 93% per l'ipotesi nulla che l'ORR sia  $\leq 20\%$  assumendo un ORR di 40% e dato un alfa a 2 code di 5%. Tuttavia, a causa dell'elevata domanda da parte dei ricercatori, e anche per tenere conto della possibilità di un alto tasso di fallimenti durante lo screening, sono stati arruolati 80 pazienti.

Gli accertamenti del tempo alla risposta sono stati riepilogati usando il metodo di Kaplan-Meier.

#### Risultati

#### Pazienti

I pazienti con cHL che sono stati arruolati e che hanno ricevuto il trattamento con nivolumab ammontavano a 80 in totale. La Tabella 2 fornisce le caratteristiche al basale dei pazienti arruolati. Alla chiusura del database, 51 degli 80 pazienti (64%) rimanevano in trattamento con nivolumab. Il numero mediano di dosi ricevute era 17 (intervallo 3-25). Dei 29 pazienti che avevano interrotto il trattamento con nivolumab, i motivi principali dell'interruzione comprendevano: progressione della malattia (n=13) e SCT (SCT allogenico, n=5; SCT autologo, n=1). Al momento del trapianto, le risposte migliori erano CR (n=1), PR (n=3) e SD (n=2). Tutti i pazienti erano vivi al cut-off dei dati.

Tabella 2. Caratteristiche dei pazienti al basale (N = 80)

Caratteristiche	Valore
Età (anni), mediana (intervallo)	37 (18-72)
Età <65 anni	77 (96)
Sesso maschile	51 (64)

Linee di terapia pregresse, <sup>a</sup> mediana (intervallo)	4 (3-15)
≥ 5 linee di terapia	39 (49)
Radioterapia pregressa	59 (74)
ASCT pregresso	80 (100)
1	74 (93)
≥ 2	6 (8)
Dati mostrati come n (%) se non indicato altrimenti	
<sup>a</sup> Escludendo il regime di preparazione ad alta dose prima dell'ASCT	

#### Efficacia

##### Tasso di risposta oggettiva (ORR)

La Tabella 3 fornisce gli ORR come accertati dall'IRRC e dai ricercatori. Il tempo mediano alla prima risposta oggettiva era 2,1 mesi (intervallo 1,6-5,7 mesi). Secondo l'accertamento dell'IRRC, 53 degli 80 pazienti (66%) sperimentavano una riduzione del carico tumorale, con 7 pazienti che avevano una remissione completa. In base all'accertamento dei ricercatori, 58 pazienti (73%) mostravano una riduzione del carico tumorale e, di questi pazienti, 22 pazienti avevano una remissione completa. Questa discordanza nella remissione completa era per lo più dovuta all'interpretazione delle scansioni FDG-PET, ed è stata giudicata tale da non avere un impatto significativo sull'interpretazione dell'attività clinica, considerando che 13/19 delle remissioni complete accertate dai ricercatori erano state accertate come remissioni almeno parziali dall'IRRC. L'ORR secondo IRRC era 72% nei pazienti (n=43) senza risposta pregressa al loro brentuximab vedotin più recente.

Tabella 3. ORR come accertato dall'IRRC e dai ricercatori

	IRRC (n=80)	Ricercatore (n=80)
ORR, CI 95%	53 (66); 55-76	58 (73); 61-82
Migliore risposta globale		
Remissione completa	7(9)	22 (28)

Remissione parziale	46 (58)	36 (45)
Malattia stabile	18 (23)	18 (23)
Malattia progressiva	6 (8)	3 (4)
Impossibile da determinare	3 (4) <sup>a</sup>	1 (1) <sup>b</sup>
Dati mostrati come n (%) se non indicato altrimenti		
<sup>a</sup> Nessun accertamento post-basale del tumore disponibile prima de o il giorno della terapia successiva (se presente) o accertamento non disponibile		
<sup>b</sup> Nessun accertamento radiografico dopo la prima dose		

#### Durata della risposta (DOR)

Dopo un follow-up mediano di 8,9 mesi, il DOR mediano era 7,8 mesi (CI 95% 6,6-non stimabile (NE)).

#### Caratteristiche della risposta e cambiamento nella lesione bersaglio

5 Al momento dell'analisi, il 62% dei rispondenti, come determinato dall'IRRC, continuava a rispondere al trattamento con nivolumab (vedere la FIG. 2A). Tutti i rispondenti tranne 1 avevano una riduzione del carico tumorale  $\geq 50\%$  rispetto al basale (vedere la FIG. 2B). Questo paziente aveva una scansione FDG-PET negativa.

Un totale di 9 pazienti continuava nivolumab oltre la progressione. Come mostrato nella FIG. 2C, 6 dei 9 pazienti mantenevano la riduzione del tumore nelle lesioni bersaglio secondo quanto accertato dai ricercatori.

#### Sopravvivenza libera da progressione (PFS) e sopravvivenza globale (OS)

10 Come mostrato nella FIG. 3, la PFS mediana tra i pazienti trattati con nivolumab era 10 mesi. A 6 mesi, la PFS era 77% (CI 95% 65%-85%), e il tasso di OS era 99% (CI 95% 91%-100%).

#### Sicurezza

15 Venivano segnalati eventi avversi (AE) per tutte le cause in 79 degli 80 pazienti (99%), con AE seri (grado 3-4) segnalati in 20 pazienti (25%). Venivano segnalati AE correlati al farmaco in 72 pazienti (vedere la Tabella 4). La polmonite veniva segnalata in 2 pazienti (3%; grado 1/2 e grado 3) tra la prima dose e i 35 giorni dopo l'ultima dose, e veniva considerata correlata al farmaco.

5 Gli AE per tutte le cause che imponevano di cessare il trattamento con nivolumab comprendevano: epatite autoimmune (n=1), livelli aumentati di alanina amminotransferasi e aspartato amminotransferasi (n=1), e insufficienza multiorgano (n=1). Venivano anche segnalati tre decessi dovuti a progressione della malattia (n=1), causa indeterminata dopo la perdita del follow-up (n=1), e insufficienza multiorgano dovuta a linfoma a cellule T positivo al virus di Epstein-Barr (n=1).

Gli AE di speciale interesse segnalati con maggiore frequenza, a prescindere dalla causalità, comprendevano eventi cutanei (41%); eventi gastrointestinali (26%); ipersensibilità/reazione correlata all'infusione (21%); ed eventi endocrini (18%), epatici (10%), renali (5%) e polmonari (1%).

Tabella 4. AE correlati al farmaco in >10% dei pazienti<sup>a</sup> (N=80)

		Qualsiasi grado	Grado 3-4
Pazienti con un evento correlato al farmaco		72 (90)	20 (25)
Stanchezza		20 (25)	0
Reazione correlata all'infusione		16 (20)	0
Rash		13 (16)	1(1)
Piressia		11 (14)	0
Artralgia		11 (14)	0
Nausea	10 (13)	0	
Diarrea	8 (10)	0	
Prurito	8 (10)	0	
Dati mostrati come n (%)			
<sup>a</sup> AE avvenuti entro 30 giorni dall'ultima dose			

10 Qualità della vita

Durante il trattamento con nivolumab, il punteggio analogico visivo medio su EQ-5D aumentava. Anche l'EORTC QLQ-C30 mostrava una tendenza al miglioramento dal basale per il punteggio funzionale, il punteggio sintomatologico e il punteggio della salute globale.

#### Conclusioni

5 In questo studio registrativo su pazienti con cHL con fallimento di ASCT e brentuximab vedotin, la monoterapia con nivolumab portava alle seguenti osservazioni: 1) il 66,3% dei pazienti aveva un tasso di risposta oggettiva (ORR) secondo l'accertamento dell'IRRC; 2) la durabilità preliminare della risposta era incoraggiante, con il 62% dei pazienti che continuava a rispondere al cut-off dei dati (durata mediana della risposta 7,8 mesi) e con una PFS mediana di 10,0 mesi; e 3) il profilo di sicurezza era accettabile, con AE prevalentemente di grado 1 o 2 e nessun nuovo  
10 problema di sicurezza rispetto ai tumori solidi.

#### ESEMPIO 2

Studio di fase 2 su un regime contenente nivolumab in pazienti con linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato

#### Obiettivi

15 L'obiettivo principale di questo studio è accertare la sicurezza e la tollerabilità globali di nivolumab in monoterapia seguito da nivolumab in combinazione con AVD (doxorubicina, vinblastina e dacarbazina) in pazienti neodiagnosticati con cHL in stadio avanzato. Per ottenere ciò, verranno determinati i pazienti con AE correlati al trattamento di grado  $\geq 3-5$  tra la prima dose e 30 giorni dopo l'ultima dose.

20 Gli obiettivi secondari di questo studio comprendono: 1) sicurezza e tollerabilità di nivolumab in monoterapia e in combinazione con AVD; 2) tasso di interruzione del trattamento durante la monoterapia, in combinazione con AVD e in generale; e 3) attività clinica misurata in base al tasso di risposta completa (CR) accertato da un comitato di revisione radiologica indipendente usando i criteri del Gruppo di lavoro internazionale [IWG] del 2007.

Gli obiettivi esplorativi di questo studio comprendono: 1) tasso di risposta oggettiva, e 2) sopravvivenza libera da progressione (PFS).

#### Architettura dello studio

Questo è uno studio di fase 2 a braccio singolo e in aperto che accerta la sicurezza e la tollerabilità di nivolumab in monoterapia seguito da nivolumab in combinazione con AVD in pazienti neodiagnosticati con cHL in stadio avanzato. Lo studio viene condotto in 8 paesi del Nord America e dell'UE, con arruolamento programmato di 50 pazienti con cHL in stadio avanzato neodiagnosticato.

5 Come descritto nella Tabella 5, i criteri di inclusione chiave per l'arruolamento in questo studio comprendono: 1) cHL neodiagnosticato precedentemente non trattato (se non con l'uso di corticosteroidi); 2) adulti di età  $\geq 18$  anni; 3) malattia in stadio avanzato (IIB, III e IV); 4) presenza di  $\geq 1$  lesione di diametro  $> 15$  mm; e 5) stato di prestazioni ECOG  $\leq 1$ . I criteri di esclusione sono: 1) linfoma noto del SNC; 2) HL nodulare a predominanza linfocitaria noto; 3) polmonite interstiziale attiva; 4) malattia autoimmune attiva o sospetta; e 5) HIV<sup>+</sup> o epatite B/C.

10 Tabella 5. Criteri di inclusione/esclusione chiave

Inclusione	Esclusione
cHL neodiagnosticato precedentemente non trattato (se non con l'uso di corticosteroidi)	Linfoma SNC noto
Adulti di età $\geq 18$ anni	HL nodulare a predominanza linfocitaria noto
Malattia in stadio avanzato (IIB, III e IV). • La malattia allo Stadio IIB deve presentare un carattere esteso o extranodale	Polmonite interstiziale attiva
Presenza di $\geq 1$ lesione di diametro $> 15$ mm	Malattia autoimmune attiva o sospetta
Stato delle prestazioni ECOG $\leq 1$	HIV <sup>+</sup> o epatite B/C
SNC = sistema nervoso centrale	

Come mostrato nella FIG. 4, i pazienti che soddisfano i criteri di inclusione di sopra ricevono inizialmente nivolumab da solo (240 mg) ogni 2 settimane per 4 dosi ("fase in monoterapia"). I pazienti ricevono poi nivolumab (240 mg) in combinazione con AVD ogni 2 settimane per 6 cicli di combinazione ("fase di combinazione"). I pazienti vengono inizialmente osservati per un massimo di 2 anni dopo l'ultimo trattamento ("fase di osservazione"). In assenza

di ricadute durante la fase di osservazione, i pazienti vengono seguiti in follow-up per un massimo di altri 5 anni per l'analisi della sopravvivenza.

#### Rivendicazioni

1. Nivolumab per l'uso in un metodo di trattamento di un linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato in un soggetto bisognoso, in cui il soggetto è precedentemente non trattato se non con corticosteroidi; e in cui il soggetto va a ricevere in somministrazione nivolumab prima da solo ad una dose flat di 240 mg ogni 2 settimane per 4 dosi, e poi ad una dose flat di 240 mg in combinazione con doxorubicina, vinblastina e dacarbazina circa ogni 2 settimane per 6 cicli di combinazione, in cui la doxorubicina va somministrata ad una dose di 25 mg/m<sup>2</sup>, la vinblastina va somministrata ad una dose di 6 mg/m<sup>2</sup>, e la dacarbazina va somministrata ad una dose di 375 mg/m<sup>2</sup>.
2. Nivolumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui il soggetto non riceve bleomicina in somministrazione.
3. Nivolumab per l'uso secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui il linfoma di Hodgkin ha un'alterazione genetica in 9p24.1.
4. Kit per l'uso in un metodo di trattamento di un linfoma di Hodgkin classico neodiagnosticato in un soggetto, in cui il soggetto è precedentemente non trattato se non con corticosteroidi, secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-3, comprendente
  - (a) un dosaggio di nivolumab; e
  - (b) un dosaggio di doxorubicina, vinblastina e dacarbazina.

Il sottoscritto dichiara che la presente traduzione è conforme al testo originale.



D.ssa Federica TRUPIANO (USBM-CPI-026 BM)

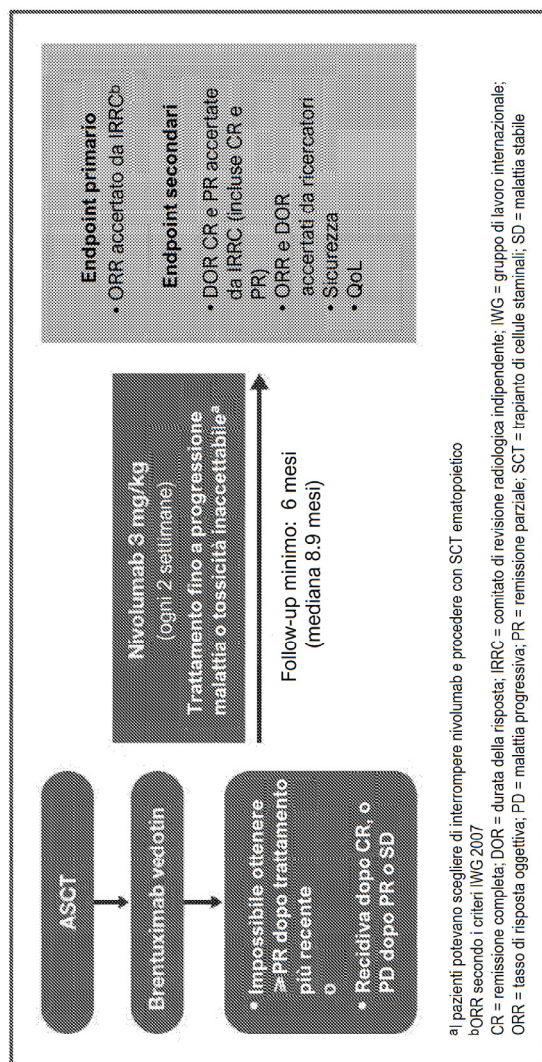


FIG. 1

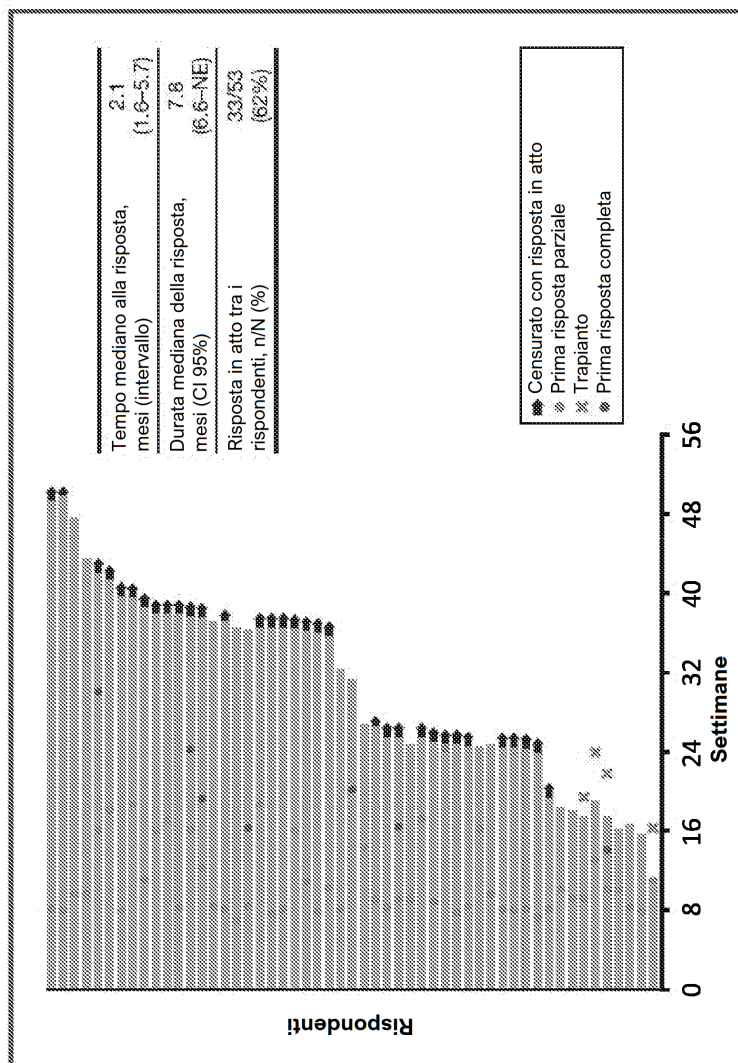


FIG. 2A

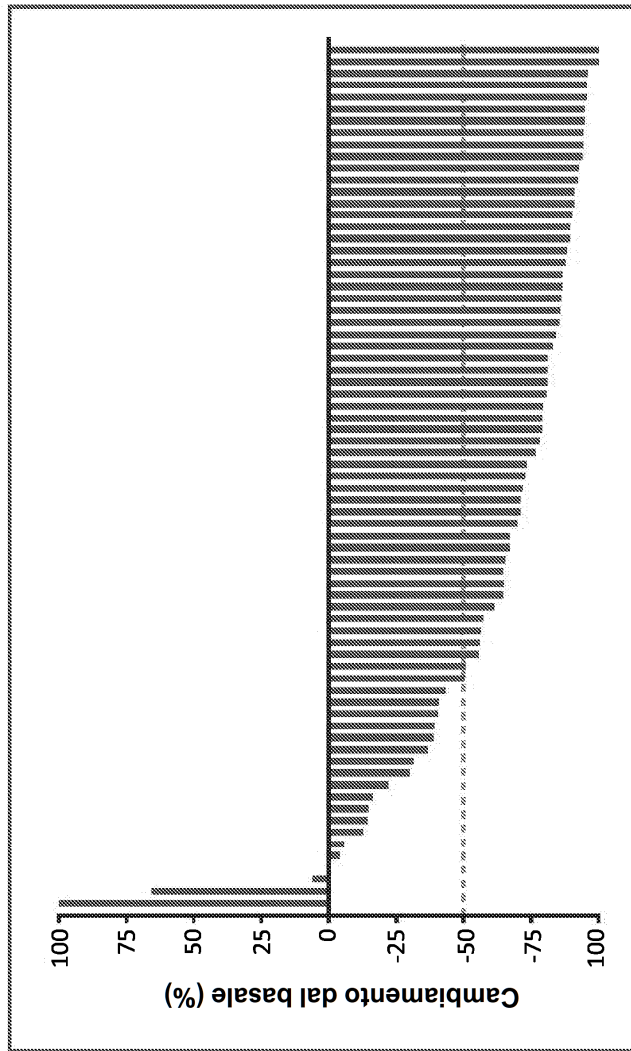


FIG. 2B

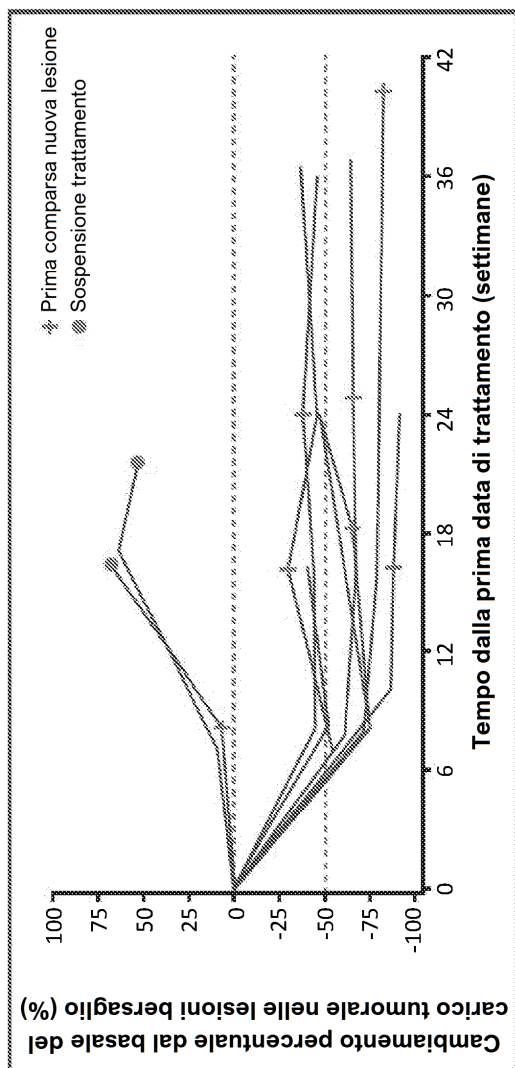
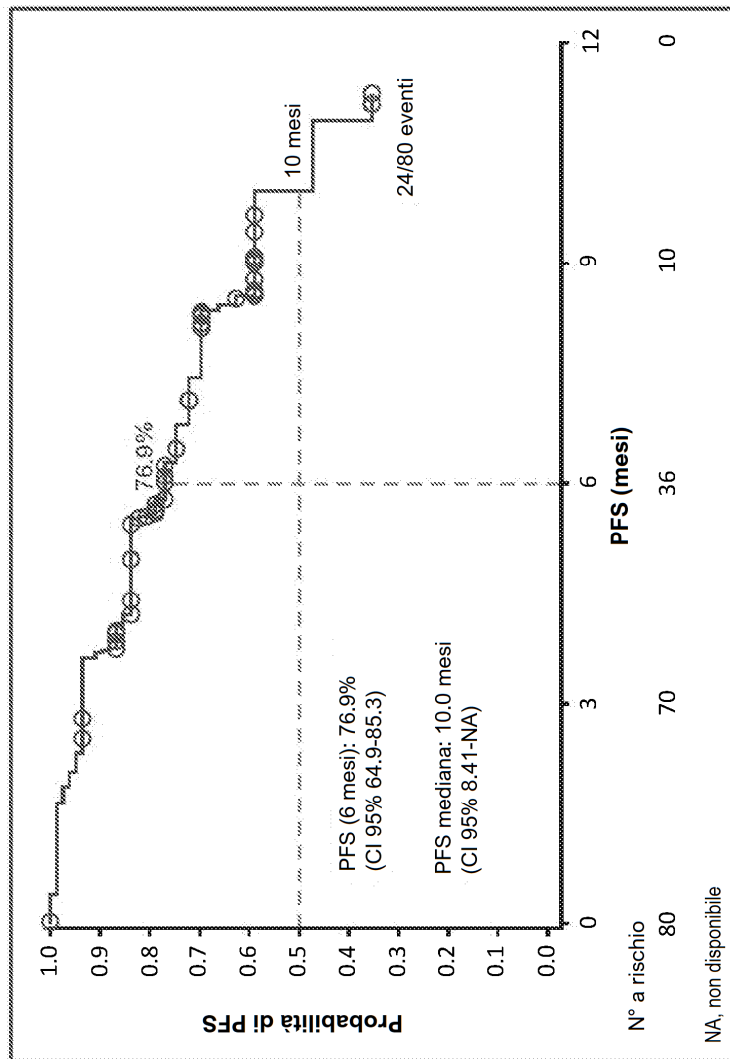
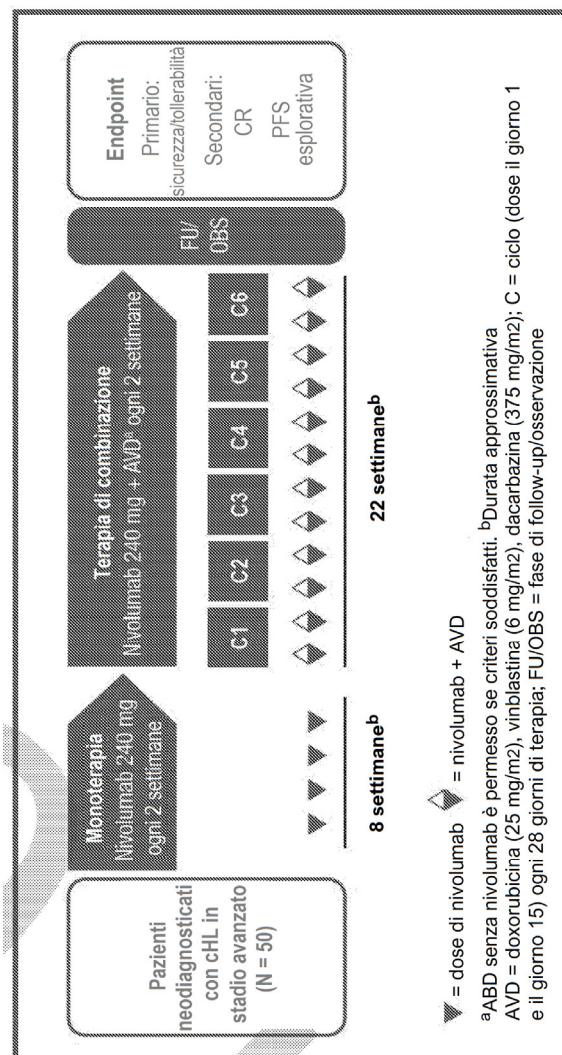


FIG. 2C



**FIG. 3**



**FIG. 4**