

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 887**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.10.2013 PCT/US2013/063068**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.04.2014 WO14055648**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2013 E 13774596 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2904011**

54 Título: **Combinación de anticuerpos anti-KIR y anticuerpos anti-PD-1 para tratar el cáncer**

30 Prioridad:

**02.10.2012 US 201261708784 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**27.11.2017**

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)  
Route 206 and Province Line Road  
Princeton, NJ 08543, US**

72 Inventor/es:

**GRAZIANO, ROBERT, F.;  
GUPTA, ASHOK, K.;  
KIM, SU, YOUNG y  
WIGGINTON, JON**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 643 887 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Combinación de anticuerpos anti-KIR y anticuerpos anti-PD-1 para tratar el cáncer

## 5 Antecedentes

Los linfocitos citolíticos naturales (NK) constituyen el 15 % de los linfocitos de sangre periférica y desempeñan un papel importante en la capacidad del sistema inmunitario innato para combatir infecciones víricas y también el cáncer (Purdy AK *et. al.*, Cancer Biol Ther 2009; 8:13-22). Los linfocitos NK se unen a las células diana a través de múltiples receptores, incluyendo receptores de citotoxicidad natural (RCN), el receptor Fc de CD16, NKG2D y otros. La unión del ligando al receptor inicia la fosforilación de tirosinas y la captación de moléculas de señalización accesorias. Esta cascada da como resultado la activación del linfocito NK, la liberación de gránulos preformados que contienen perforina y granzimas en la célula diana, y apoptosis. La liberación simultánea de citosinas y quimiocinas da como resultado un entorno microambiental que capta otras células inmunitarias. Los linfocitos NK tienen la capacidad de unirse a cada célula en el cuerpo (Murphy WJ, *et. al.*, Biol Blood Marrow Transplant 2012; 18:S2-S7). Sin embargo, la unión de células normales no da como resultado actividad citotóxica debido a la capacidad de los linfocitos NK para utilizar de forma simultánea un conjunto distinto de receptores para unirse a moléculas de complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I. La unión del antígeno leucocitario humano (HLA) E al receptor heterodimérico NKG2A/CD94, o de las moléculas HLA-A, B y C a receptores de tipo Ig de linfocitos citolíticos inhibidores (los KIR), da como resultado la fosforilación de tirosinas, la captación de los adaptadores de señalización SHP-1 o SHP-2, y señalización aguas abajo. El resultado final es una señal dominante que suprime las señales de activación normales. Por lo tanto, la interacción KIR/HLA puede afectar la sensibilidad de los linfocitos NK y también el desarrollo del número total de linfocitos NK sensibles maduras, conocido como capacitación (*licensing*).

Existen siete KIR inhibidores y siete KIR activadores, que es un factor que da como resultado en la diversidad de la herencia y expresión del KIR. KIR también se expresa en linfocitos T citolíticos naturales (NKT) y un pequeño subconjunto de linfocitos T (Uhrberg M, *et. al.*, J. Immunol. 2001; 166:3923-3932). Por lo tanto, mecánicamente, el bloqueo del KIR inhibidor podría inducir efectos antitumorales al permitir la activación de linfocitos NK y posiblemente también algunos linfocitos T.

La evidencia que sustenta la implicación de los linfocitos NK en la respuesta antitumoral proviene del contexto de trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH). Dada la diversidad tanto del KIR como del HLA, no es sorprendente que el KIR en los linfocitos NK del donante puedan no interactuar con el HLA del hospedador, denominado como una falta de coincidencia de KIR. El descubrimiento de que los pacientes de LMA trasplantados con linfocitos NK de donantes con KIR no coincidente tuvieron tasas de recaída más bajas (el 3 % frente al 47 %,  $p < 0,01$ ) y riesgo reducido de recaída (riesgo relativo 0,48, CI del 95 % 0,29-0,78) dio sustento científico al papel de los linfocitos NK en la respuesta antitumoral (Ruggeri L, *et. al.*, Blood. 2007; 110:433-440).

En el melanoma, determinadas combinaciones de KIR y HLA pueden proporcionar un entorno más inmunosupresor, dado que determinadas combinaciones se ven más frecuentemente en pacientes metastásicos en comparación con pacientes no metastásicos (Naumova E, *et. al.*, Cancer Immunol Immunother 2005; 54:172-178). La no coincidencia del KIR ha mostrado ser un marcador de pronóstico favorable para pacientes de neuroblastoma de alto riesgo sometidos a TCMH autólogo (Delgado DC, *et. al.*, Cancer Res 2010; 70:9554-9561). El sustento experimental para el papel importante de los linfocitos NK en tumores sólidos proviene de estudios en murinos en los cuales ratones que carecen de linfocitos T aún podían erradicar grandes tumores sólidos después de la activación de linfocitos NK por la adición de IL-15 (Liu RB, *et. al.*, Cancer Res 2012; 72:1964-1974).

Muerte Celular Programada 1 (PD-1) es un receptor de señalización de superficie celular que desempeña un papel crítico en la regulación de la activación y tolerancia de linfocitos T (Keir ME, *et. al.*, Annu Rev Immunol 2008; 26:677-704). Es una proteína de transmembrana de tipo I y, junto con BTLA, CTLA-4, ICOS y CD28, comprende la familia CD28 de receptores co-estimuladores de linfocitos T. PD-1 se expresa principalmente en linfocitos T activados, linfocitos B y células mieloides (Dong H, *et. al.*, Nat Med 1999; 5:1365-1369). También se expresa en linfocitos citolíticos naturales (NK) (Terme M, *et. al.*, Cancer Res 2011; 71:5393-5399). La unión de PD-1 por parte de sus ligandos, PD-L1 y PD-L2, da como resultado la fosforilación del resto tirosina en el dominio inhibidor de tirosina de receptor inmunitario intracelular proximal, seguido de la captación de la fosfatasa SHP-2, eventualmente dando como resultado la regulación negativa de la activación de linfocitos T. Un papel importante de PD-1 es limitar la actividad de linfocitos T en tejidos periféricos en el momento de una respuesta inflamatoria a infección, limitando así el desarrollo de autoinmunidad (Pardoll DM., Nat Rev Cancer 2012; 12:252-264). La evidencia de este papel regulador negativo proviene del descubrimiento de que ratones deficientes en PD-1 desarrollan enfermedades autoinmunitarias tipo lupus, incluyendo artritis y nefritis, junto con cardiomiopatía (Nishimura H, *et. al.*, Immunity 1999; 11:141-151 y Nishimura H, *et. al.*, Science 2001; 291:319-322). En un contexto tumoral, la consecuencia es el desarrollo de resistencia inmunitaria dentro del microambiente tumoral. PD-1 se expresa de forma elevada en linfocitos infiltrantes de tumor y sus ligandos están regulados de forma positiva en la superficie celular de muchos tumores diferentes (Dong H, *et. al.*, Nat Med 2002; 8:793-800). Múltiples modelos de cáncer de murino han demostrado que la unión de ligando a PD-1 da como resultado evasión inmunitaria. Además, el bloqueo de esta

interacción da como resultado actividad antitumoral (Topalian SL, *et. al.*, New Eng J Med 2012; 366(26):2443-2454; Topalian SL, *et. al.*, Curr Opin Immunol 2012; 24:207-212; Brahmer JR, *et. al.*, New Eng J Med 2012; 366(26):2455-2465; Hamid O. *et. al.*, New Eng J Med 2013; 369:134-144; Hamid O y Carvajal RD, Expert Opin Biol Ther 2013; 13(6):847-861). El uso de anticuerpos anti-KIR en la terapia de combinación se sugiere en el documento  
 5 WO2006/072625. Los pacientes con tumores sólidos metastásicos o resistentes tienen un pronóstico muy malo (Rosenberg SA, *et. al.*, Cancer Immunotherapy in Cancer: Principles & Practice of Oncology (Eds DeVita VT, Lawrence TS y Rosenberg SA) 2011; 332-344 (Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia PA)). A pesar de los avances en la terapia multimodal, los aumentos de la supervivencia general en esta población de pacientes han sido limitados. Por consiguiente, es un objeto de la presente invención proporcionar métodos mejorados para tratar  
 10 sujetos con tales tumores (por ejemplo, tumores sólidos resistentes avanzados).

## Resumen

En el presente documento se proporcionan métodos para tratar el cáncer, por ejemplo, tumores sólidos resistentes  
 15 avanzados, en un paciente humano, que comprenden administrar al paciente una combinación de un anticuerpo anti-KIR y un anticuerpo anti-PD-1, en los que la combinación se administra (o es para la administración) de acuerdo con un pauta posológica clínica particular (es decir, a una cantidad de dosis particular y de acuerdo con un programa de dosificación específico). En una realización no limitativa, el paciente humano padece un tumor (por ejemplo, un tumor sólido resistente avanzado) seleccionado del grupo que consiste en cáncer pulmonar no microcítico (CPSM), carcinoma de células renales (CCR), melanoma, cáncer colorrectal y carcinoma ovárico seroso. Se describen otros tumores que pueden tratarse en la siguiente Descripción Detallada.

Un anticuerpo anti-KIR a modo de ejemplo es lirilumab (también denominado anteriormente BMS-986015 o IPH2102), que comprende las cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias mostradas en SEQ ID NO: 1 y 2,  
 25 respectivamente, o fragmentos de unión a antígeno y variantes de los mismos. En otras realizaciones, el anticuerpo comprende las regiones determinantes de complementariedad (las CDR) de la cadena pesada y ligera, o regiones variables (la VR) de lirilumab. Por consiguiente, en una realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada (VH) de lirilumab que tiene la secuencia mostrada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera (VL) de LIRILUMAB que tiene la secuencia mostrada en SEQ ID NO: 5. En otra realización, el anticuerpo comprende secuencias de la cadena pesada de CDR1, CDR2 y CDR3, como se expone en las SEQ ID NO: 7, 8 y 9, respectivamente, y secuencias de la cadena ligera de CDR1, CDR2 y CDR3, como se expone en las SEQ ID NO: 10, 11 y 12, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende regiones VH y/o VL que tienen las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 3 y/o SEQ ID NO: 5, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo  
 30 comprende las regiones VH y/o VL codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en SEQ ID NO: 4 y/o SEQ ID NO: 6, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo compite por la unión con, y/o se une al mismo epítipo en KIR que los anticuerpos mencionados anteriormente. En otra realización, el anticuerpo tiene al menos aproximadamente el 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos de la región variable con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, al menos aproximadamente el 90 %, 95 % o 99 % de identidad de región variable con SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 5).

Un anticuerpo anti-PD-1 a modo de ejemplo es nivolumab (denominado 5C4 en el documento WO 2006/121168; también conocido como BMS-936558, MDX-1106 u ONO-4538), que comprende cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 17 y 18, respectivamente, o fragmentos de unión a antígeno y variantes de los mismos. En otras realizaciones, el anticuerpo comprende las CDR o las VR de las cadenas pesada y ligera de nivolumab. Por consiguiente, en una realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH de lirilumab que tiene la secuencia mostrada en SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL de lirilumab que tiene la secuencia mostrada en SEQ ID NO: 21. En otra realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 23, 24 y 25, respectivamente, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 26, 27 y 28, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende regiones VH y/o VL que tienen las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 19 y/o SEQ ID NO: 21, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende las regiones variables de la cadena pesada (VH) y/o variables de la cadena ligera (VL) codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en SEQ ID NO: 20 y/o SEQ ID NO: 22, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo compite por la unión con, y/o se une al mismo epítipo en PD-1, que los anticuerpos mencionados anteriormente. En otra realización, el anticuerpo tiene al menos aproximadamente el 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos de la región variable con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, al menos aproximadamente el 90 %, 95 % o 99 % de identidad de región variable con SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 21).

Por consiguiente, en un aspecto, se proporcionan métodos para tratar el cáncer (por ejemplo, tumores sólidos resistentes avanzados) en un paciente humano, comprendiendo los métodos administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de:

- 65 (a) un anticuerpo anti-KIR que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una

región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5,

(b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 21,

5 en el que el método comprende al menos un ciclo de administración, en el que el ciclo es un periodo de ocho semanas, en el que para cada uno de por lo menos un ciclo, se administran dos dosis del anticuerpo anti-KIR a una dosis de 0.1-20 mg/kg de peso corporal y se administran cuatro dosis del anticuerpo anti-PD-1 a una dosis de 0,1-20 mg/kg de peso corporal.

10 En determinadas realizaciones, cada dosis del anticuerpo anti-KIR se administra a 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 o 20 mg/kg. En realizaciones preferentes, cada dosis del anticuerpo anti-KIR se administra a 0,3, 1 o 3 mg/kg.

15 En otras realizaciones, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 o 20 mg/kg de peso corporal. En realizaciones preferentes, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a 0,3, 1, 3 o 10 mg/kg. En realizaciones más preferentes, el anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 3 mg/kg.

En una realización, el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 se administran a las siguientes dosis:

- 20 (a) 0,1 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;  
 (b) 0,3 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;  
 (c) 1 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;  
 (d) 3 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;  
 (e) 6 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1; o  
 25 (f) 10 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1.

Por consiguiente, en una realización, la dosis del anticuerpo anti-KIR y/o anti-PD-1 se calcula por mg/kg de peso corporal. Sin embargo, en otra realización, la dosis del anticuerpo anti-KIR y/o anti-PD-1 es una dosis única-fija que se fija independientemente del peso del paciente. Por ejemplo, el anticuerpo anti-KIR y/o anti-PD-1 se puede administrar a una dosis fija de 5, 20, 75, 200, 400, 750 o 1.500 mg, sin tener en cuenta el peso del paciente. En determinadas realizaciones, la dosis administrada del anticuerpo anti-PD-1 puede fijarse a 200 mg, mientras que el anticuerpo anti-KIR se administra a una dosis fija de 5, 20, 75, 200, 400 o 750 mg. En otra realización, las pautas posológicas se ajustan para proporcionar la respuesta deseada óptima (por ejemplo, una respuesta eficaz).

35 En otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 se administra en los días 1, 15, 29 y 43 de cada ciclo. En otra realización, el anticuerpo anti-KIR se administra en los días 1 y 29 de cada ciclo. En otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 se administra antes de la administración del anticuerpo anti-KIR los días 1 y 29. En otra realización, el anticuerpo anti-KIR se administra dentro de los 30 minutos después de la administración del anticuerpo anti-PD-1. En otra realización, el tratamiento consiste en hasta 12 ciclos.

40 En una realización, el anticuerpo anti-PD-1 y el anticuerpo anti-KIR se administran como un tratamiento de elección ("primera línea") (por ejemplo, el tratamiento inicial o primero). En otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 y el anticuerpo anti-KIR se administran como una segunda línea de tratamiento (por ejemplo, después de un tratamiento inicial con el mismo agente terapéutico, o con uno distinto, incluyendo después de una recaída y/o cuando el primer tratamiento ha fracasado).

50 Los anticuerpos anti-KIR y anti-PD-1 pueden administrarse a un sujeto por cualquier medio adecuado. En una realización, los anticuerpos se formulan para la administración intravenosa. En otra realización, los anticuerpos se administran de forma simultánea (por ejemplo, en una única formulación o de forma simultánea como formulaciones distintas). Como alternativa, en otra realización, los anticuerpos se administran de forma secuencial (por ejemplo, como formulaciones distintas).

55 La eficacia de los métodos de tratamiento proporcionados en el presente documento se puede evaluar usando cualquier medio adecuado. En una realización, el tratamiento produce al menos un efecto terapéutico seleccionado del grupo que consiste en reducción del tamaño de un tumor, reducción del número de lesiones metastásicas a lo largo del tiempo, respuesta total, respuesta parcial y enfermedad estable.

60 También se proporcionan kits que incluyen una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo anti-KIR, tal como lirilumab, y un anticuerpo anti-PD-1, tal como nivolumab, y un transportador farmacéuticamente aceptable, en una cantidad terapéuticamente eficaz adaptada para su uso en los métodos descritos en el presente documento. En una realización, el kit comprende:

- 65 (a) una dosis de un anticuerpo anti-KIR que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5;  
 (b) una dosis de un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región

variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 21; y  
(c) instrucciones para usar el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 en un método de la invención.

5 En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KIR, comprendiendo el anticuerpo anti-KIR los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5, para la coadministración con un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19, y los dominios  
10 CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 21, en por lo menos un ciclo, en el que para cada ciclo se administran dos dosis del anticuerpo anti-KIR a una dosis de 0,1, 0,3, 1, 3, 6 o 10 mg/kg y se administran cuatro dosis del anticuerpo anti-PD-1 a una dosis de 3 mg/kg.

15 En otro aspecto de la invención, el anticuerpo anti-PD-1 en cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente se reemplaza por, o se combina con, un anticuerpo anti-PD-L1 o anti-PD-L2. Se describen anticuerpos anti-PD-L1 a modo de ejemplo en los documentos WO 2007/005874, WO 2010/077634 y WO 2011/066389, y se describen anticuerpos anti-PD-L2 a modo de ejemplo en el documento WO 2004/007679. Por consiguiente, la invención también presenta métodos, composiciones y kits para tratar tumores en pacientes humanos usando las dosificaciones clínicamente eficaces descritas anteriormente de un anticuerpo anti-KIR  
20 combinado con las dosificaciones clínicamente eficaces descritas anteriormente de un anticuerpo anti-PD-1, en los que la dosificación del anticuerpo PD-1 se reemplaza por la misma dosificación de un anticuerpo anti-PD-L1 o anti-PD-L2.

### 25 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la inhibición del crecimiento tumoral *in vivo* usando un tratamiento en combinación de un anticuerpo anti-KIR y un anticuerpo anti-PD-1 en un modelo de tumor sólido de murino.

30 La figura 2 es un esquema que ilustra las partes de un ensayo clínico de fase I.

### Descripción detallada

#### I. Definiciones

35 Según se usa en el presente documento, el término “sujeto” o “paciente” es un paciente de cáncer humano (por ejemplo, un paciente que tiene un tumor, tal como un tumor sólido resistente avanzado, o una neoplasia maligna hematológica).

40 Según se usa en el presente documento, “tratamiento eficaz” se refiere a un tratamiento que produce un efecto beneficioso, por ejemplo, la mejoría de al menos un síntoma de una enfermedad o trastorno. Un efecto beneficioso puede tener la forma de una mejora con respecto a los valores iniciales, es decir, una mejora con respecto a una medición u observación hecha antes del inicio de la terapia de acuerdo con el método. Un efecto beneficioso también puede tener la forma de detener, ralentizar, retardar o estabilizar una progresión nociva de un marcador de tumor sólido. Tratamiento eficaz puede referirse al alivio de al menos un síntoma de un tumor sólido. Tal tratamiento  
45 eficaz puede, por ejemplo, reducir el dolor del paciente, reducir el tamaño y/o el número de lesiones, puede reducir o prevenir la metástasis de un tumor, y/o puede ralentizar el crecimiento de un tumor.

La expresión “cantidad eficaz” se refiere a una cantidad de una gente que proporciona el resultado biológico, terapéutico y/o profiláctico deseado. El resultado puede ser la reducción, mejoría, atenuación, reducción, retraso y/o alivio de uno o más de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. En referencia a tumores sólidos, una cantidad eficaz comprende una cantidad suficiente para provocar que un tumor se retraiga y/o para disminuir la velocidad de crecimiento del tumor (tal como para suprimir el crecimiento tumoral) o para prevenir o retrasar otra proliferación celular no deseada. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para retrasar el desarrollo de un tumor. En algunas realizaciones, una  
50 cantidad eficaz es una cantidad suficiente para prevenir o retrasar la recidiva de un tumor. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones. La cantidad eficaz del fármaco o composición puede: (i) reducir el número de células cancerosas; (ii) reducir el tamaño tumoral; (iii) inhibir, retrasar, ralentizar hasta cierto punto y puede detener la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; (iv) inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y puede detener la metástasis de un tumor; (v) inhibir el crecimiento tumoral; (vi) prevenir o retrasar la aparición y/o recidiva de un tumor; y/o (vii) aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. En un ejemplo, una “cantidad eficaz” es la cantidad de anticuerpo anti-KIR y la cantidad de anticuerpo anti-PD-1, en combinación, que se ha probado clínicamente que efectúa una disminución significativa del cáncer o que  
60 retarda la progresión del cáncer, tal como un tumor sólido avanzado.

65 Según se usa en el presente documento, las expresiones “dosis única”, “dosis fija” y “dosis única-fija” se usan indistintamente y se refieren a una dosis que se administra a un paciente independientemente del peso o área de

superficie corporal (ASC) del paciente. Por lo tanto, la dosis fija o única no se proporciona como una dosis en mg/kg, sino más bien como una cantidad absoluta del agente (por ejemplo, el anticuerpo anti-KIR y/o anticuerpo anti-PD-1).

Según se usa en el presente documento, una “dosis basada en el área de superficie corporal (ASC)” se refiere a una dosis (por ejemplo, del anticuerpo anti-KIR y/o anticuerpo anti-PD-1) que se ajusta al área de superficie corporal (ASC) del paciente individual. Una dosis basada en el ASC puede proporcionarse como mg/kg de peso corporal. Se han publicado diversos cálculos para llegar a el ASC sin medición directa, de los cuales el más ampliamente usado es la fórmula de Du Bois (véase Du Bois D, Du Bois EF (junio de 1916) Archives of Internal Medicine 17 (6):863-71 y Berbraecken, J. *et. al.* (abril de 2006), Metabolism - Clinical and Experimental 55 (4):515-24). Otras fórmulas a modo de ejemplo del ASC incluyen la fórmula de Mosteller (Mosteller RD, N. Engl J Med., 1987; 317:1098), la fórmula de Haycock (Haycock GB, *et. al.*, JPediatr 1978, 93:62-66), la fórmula de Gehan y George (Gehan EA, George SL, Cancer Chemother Rep 1970, 54:225-235), la fórmula de Boyd (Current, JD (1998), The Internet Journal of Anesthesiology 2 (2) y Boyd, Edith (1935), University of Minnesota. The Institute of Child Welfare, Series monográfica, N.º x. London: Oxford University Press), la fórmula de Fujimoto (Fujimoto S, *et. al.*, Nippon Eiseigaku Zasshi 1968;5:443-50), la fórmula de Takahira (Fujimoto S, *et. al.*, Nippon Eiseigaku Zasshi 1968;5:443-50) y la fórmula de Schlich (Schlich E, *et. al.*, Ernährungs Umschau 2010;57:178-183).

El término “anticuerpo” describe polipéptidos que comprenden al menos un sitio de unión a antígeno obtenido de anticuerpo (por ejemplo, región VH/VL o Fv, o CDR). Los anticuerpos incluyen formas conocidas de anticuerpos. Por ejemplo, el anticuerpo puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo biespecífico o un anticuerpo quimérico. El anticuerpo también puede ser un Fab, Fab’2, ScFv, SMIP, Affibody®, nanocuerpo o un anticuerpo de dominio. El anticuerpo también puede ser de cualquiera de los siguientes isotipos: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgD e IgE. El anticuerpo puede ser un anticuerpo de origen natural o puede ser un anticuerpo que se haya alterado (por ejemplo, por mutación, delección, sustitución, conjugación a una fracción que no es de anticuerpo). Por ejemplo, un anticuerpo puede incluir uno o más aminoácidos variantes (en comparación con un anticuerpo de origen natural) que cambie una propiedad (por ejemplo, una propiedad funcional) del anticuerpo. Por ejemplo, se conocen en la técnica numerosas de tales alteraciones las cuales afectan, por ejemplo, la semivida, la función efectora y/o respuestas inmunitarias frente al anticuerpo en un paciente. El término anticuerpo también incluye construcciones polipeptídicas artificiales que comprenden al menos un sitio de unión a antígeno obtenido de anticuerpo.

Según se usa en el presente documento, un “receptor de tipo Ig de linfocitos citolíticos”, “receptor inhibidor de linfocitos citolíticos” o “KIR”, se refiere a una proteína o polipéptido codificado por un gen que es un miembro de la familia de genes KIR o por un ADNc preparado a partir de tal gen. Una revisión detallada de la familia de genes KIR, incluyendo la nomenclatura de los genes KIR y de los productos de los KIR, y números de referencia de GenBank para los KIR a modo de ejemplo, es “The KIR Gene Cluster” (El agrupamiento de genes KIR) por M. Carrington y P. Norman, disponible en el sitio web de la NCBI llamado “Bookshelf” (accesible a través de la dirección de internet [ncbi.nlm.nih.gov/books](http://ncbi.nlm.nih.gov/books)). Las secuencias de genes de KIR y los ADNc, así como sus productos proteicos, están disponibles en bases de datos públicas, incluyendo GenBank. Los ejemplos no limitativos de entradas de GenBank de los KIR humanos tienen los siguientes números de referencia: KIR2DL1: número de referencia de GenBank U24076, NM\_014218, AAR16197 o L41267; KIR2DL2: número de referencia de GenBank U24075 o L76669; KIR2DL3: número de referencia de GenBank U24074 o L41268; KIR2DL4: número de referencia de GenBank X97229; KIR2DS1: número de referencia de GenBank X89892; KIR2DS2: número de referencia de GenBank L76667; KIR2DS3: número de referencia de GenBank NM\_012312 o L76670 (variante de corte y empalme); KIR3DL1: número de referencia de GenBank L41269; y KIR2DS4: número de referencia de GenBank AAR26325. Un KIR puede comprender de 1 a 3 dominios extracelulares y puede tener una cola citoplasmática larga (es decir, más de 40 aminoácidos) o corta (es decir, menos de 40 aminoácidos). Como se describió anteriormente en el presente documento, estas características determinan la nomenclatura de un KIR. Las moléculas KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3 y KIR2DS4 a modo de ejemplo comprenden polipéptidos que tienen las siguientes secuencias de aminoácidos respectivas:

#### **Dominio extracelular de KIR2DL1:**

HEGVHRKPSLLAHPGXLVKSEETVILQCWSDVMFEHLLHREGMFNDTLRLI  
 GEHHDGVSKANFSISRMTQDLAGTYRCYGSVTHSPYQVSAPSDPLDIVIIGLY  
 EKPSLSAQXGPTVLAGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRLPAGPKVN  
 GTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFHDSPEYWSKSSDPLLVSVTGNPNSNSWPSP TEPSSKTGNPRHLH  
 (SEQ ID NO: 13), en donde “X” en la posición 16 es P o R y en donde “X” en la posición 114 es P o L,  
 representando variantes alélicas.

**Dominio extracelular de KIR2DL2:**

HEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVRFEFHLLHREGKFKDTLHLIG  
 EHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYE  
 KPSLSAQPGPTVLAGEVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHECRFSAGPKVNGT  
 FQADFPLGPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSNSSDPLLVSIVIGNPSNSWPSPTPE  
 SSKTGNPRHLH (SEQ ID NO:14)

5 **Dominio extracelular de KIR2DL3:**

HEGVHRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQCWSDVRFQHFLLHREGKFKDTLHLIG  
 EHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYE  
 KPSLSAQPGPTVLAGEVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRFSAGPKVNGT  
 FQADFPLGPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSNSSDPLLVSIVIGNPSNSWPSPTPE  
 PSSETGNPRHLH (SEQ ID NO:15)

10 **Dominio extracelular de KIR2DS4:**

QEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHLLHREGKFNNTLHLIG  
 EHHDGVSKANFSIGPMMVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMV (SEQ  
 ID NO:16)

15 El término "KIR2DL2/3" se refiere a cualquiera o ambos de los receptores KIR2DL2 y KIR2DL3. Estos dos receptores tienen una homología muy alta, están codificados por formas alélicas del mismo gen y la técnica los considera como similares desde el punto de vista funcional.

20 Según se usa en el presente documento, las expresiones "Muerte Programada 1", "Muerte Celular Programada 1", "proteína PD-1", "PD-1", "PD1", "PDCD1", "hPD-1" y "hPD-1" se usan indistintamente, e incluyen variantes, isoformas, especies homólogas de la PD-1 humana, y análogos que tienen al menos un epítipo común con PD-1. La secuencia de PD-1 completa se puede encontrar con el n.º de referencia de GenBank U64863 (SEQ ID NO: 29).

25 La proteína Muerte Programada 1 (PD-1) es un miembro inhibidor de la familia CD28 de receptores, que también incluye a CD28, CTLA-4, ICOS y BTLA. PD-1 se expresa en linfocitos B activados, linfocitos T y células mieloides (Agata *et al.*, citado anteriormente; Okazaki *et al.* (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14:391779-82; Bennett *et al.* (2003) *J Immunol* 170:711-8). Los miembros iniciales de la familia, CD28 e ICOS, se descubrieron por los efectos funcionales de aumento de la proliferación de linfocitos T después de la adición de anticuerpos monoclonales (Hutloff *et al.* (1999) *Nature* 397:263-266; Hansen *et al.* (1980) *Immunogenetics* 10:247-260). PD-1 se descubrió a través de la exploración de la expresión diferencial en células apoptóticas (Ishida *et al.* (1992) *EMBO J* 11:3887-95).  
 30 Los demás miembros de la familia, CTLA-4 y BTLA, se descubrieron a través de la exploración de la expresión diferencial en linfocitos T citotóxicos y linfocitos TH1, respectivamente. CD28, ICOS y CTLA-4 tienen todos un resto de cisteína no emparejado que permite la homodimerización. En contraste, se sugiere que PD-1 existe como un monómero, que carece del resto de cisteína no emparejado característico en otros miembros de la familia de CD28.

35 El gen PD-1 es una proteína transmembrana de tipo 1 de 55 kDa que es parte de la superfamilia de genes de Ig (Agata *et al.*, (1996) *Int. Immunol* 8:765-72). PD-1 contiene un motivo de tirosina inhibidor inmunorreceptor (ITIM) proximal de membrana y un motivo de cambio basado en tirosina (ITSM) distal de membrana (Thomas, M.L. (1995) *J Exp Med* 181:1953-6; Vivier, E y Daeron, M (1997) *Immunol Today* 18:286-91). Aunque es estructuralmente similar a CTLA-4, PD-1 carece del motivo MYPPPY que es crítico para la unión a B7-1 y B7-2. Se han identificado dos ligandos para PD-1, PD-L1 y PD-L2, que han mostrado regular de forma negativa la activación de linfocitos T después de la unión a PD-1 (Freeman *et al.* (2000) *J Exp Med* 192:1027-34; Latchman *et al.* (2001) *Nat Immunol* 2:261-8; Carter *et al.* (2002) *Eur J Immunol* 32:634-43). Tanto PD-L1 como PD-L2 son homólogos de B7 que se unen a PD-1, pero no se unen a otros miembros de la familia CD28. PD-L1 es abundante en diversos cánceres humanos (Dong *et al.* (2002) *Nat. Med.* 8:787-9). La interacción entre PD-1 y PD-L1 da como resultado una  
 40 disminución de linfocitos infiltrantes de tumor, una disminución de la proliferación mediada por receptores de linfocitos T y la evasión inmunitaria de las células cancerosas (Dong *et al.* (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank *et al.*  
 45

(2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314; Konishi *et al.* (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100). La inmunosupresión puede invertirse inhibiendo la interacción local de PD-1 con PD-L1 y el efecto es aditivo cuando la interacción de PD-1 con PD-L2 también se bloquea (Iwai *et al.* (2002) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 99:12293-7; Brown *et al.* (2003) J. Immunol. 170:1257-66).

5 En concordancia con que PD-1 es un miembro inhibidor de la familia CD28, los animales deficientes en PD-1 desarrollan diversos fenotipos autoinmunitarios, incluyendo cardiomiopatía autoinmunitaria y un síndrome de tipo lupus con artritis y nefritis (Nishimura *et al.* (1999) Immunity 11:141-51; Nishimura *et al.* (2001) Science 291:319-22). Además, se ha descubierto que PD-1 desempeña un papel en la encefalomiелitis autoinmunitaria, el lupus eritematoso sistémico, la enfermedad de injerto contra el hospedador (EICH), la diabetes tipo I y la artritis reumatoide (Salama *et al.* (2003) J Exp Med 198:71-78; Prokunina y Alarcon-Riquelme (2004) Hum Mol Genet 13:R143; Nielsen *et al.* (2004) Lupus 13:510). En una línea de tumor de linfocitos B de murino, el ITSM de PD-1 mostró ser esencial para bloquear el flujo de Ca<sup>2+</sup> mediado por BCR y la fosforilación por tirosinas de moléculas efectoras aguas abajo (Okazaki *et al.* (2001) PNAS 98:13866-71).

#### 15 Ila. Anticuerpos anti-KIR

Los anticuerpos anti-KIR humano (o dominios VH/VL obtenidos de los mismos) adecuados para usarse en la invención pueden generarse usando métodos bien conocidos en la técnica. Como alternativa, se pueden usar anticuerpos anti-KIR reconocidos en la técnica. En realizaciones preferentes, el anticuerpo anti-KIR reacciona de forma cruzada con múltiples receptores KIR inhibidores y potencia la citotoxicidad de linfocitos NK que portan uno o más de estos receptores. Por ejemplo, el anticuerpo anti-KIR puede unirse a cada uno de KIR2D2DL1, KIR2DL2 y KIR2DL3, y potenciar la actividad de linfocitos NK al reducir, neutralizar y/o invertir la inhibición de la citotoxicidad de linfocitos NK mediada por cualquiera o todos estos KIR. En realizaciones adicionales, el anticuerpo anti-KIR no se une a KIR2DS4 y/o KIR2DS3. Por ejemplo, se pueden usar los anticuerpos monoclonales 1-7F9 (también conocidos como IPH2101), 14F1, 1-6F1 y 1-6F5, descritos en el documento WO 2006/003179. También se pueden usar anticuerpos que compitan con cualquiera de estos anticuerpos reconocidos en la técnica por la unión a KIR. Los anticuerpos anti-KIR reconocidos en la técnica adicionales que pueden utilizarse incluyen, por ejemplo, los descritos en los documentos WO 2005/003168, WO 2005/009465, WO 2006/072625, WO 2006/072626, WO 2007/042573, WO 2008/084106, WO 2010/065939, WO 2012/071411 y WO/2012/160448.

Un ejemplo de anticuerpo anti-KIR a modo de ejemplo es lirilumab (también denominado BMS-986015, IPH2102 o en el documento WO 2008/084106 denominado 1-7F9(S241P)) que comprende las cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 1 y 2, respectivamente, o fragmentos de unión a antígeno y variantes de los mismos. Lirilumab es un anticuerpo anti-KIR completamente humano que comprende las mismas regiones variables de la cadena pesada y ligera que 1-7F9 (descrito en el documento WO 2006/003179) y de esta manera se une al mismo epítipo que 1-7F9, pero difiere de 1-7F9 en que (1) se prepara en células de ovario de hámster chino (CHO), mientras que 1-7F9 se prepara a partir de células de hibridoma, y (2) se ha introducido una mutación estabilizadora en la bisagra (S231P) en lirilumab (documento WO 2008/084106).

40 En otras realizaciones, el anticuerpo comprende las CDR o regiones variables de la cadena pesada y ligera de lirilumab. Por consiguiente, en una realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH de lirilumab que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL de lirilumab que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5. En otra realización, el anticuerpo comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 7, 8 y 9, respectivamente, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 10, 11 y 12, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende regiones VH y/o VL que tienen las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO:3 y/o SEQ ID NO: 5, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende las regiones variable de la cadena pesada (VH) y/o variable de la cadena ligera (VL) codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en SEQ ID NO: 4 y/o SEQ ID NO: 6, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo compete por la unión con, y/o se une al mismo epítipo en KIR que, los anticuerpos mencionados anteriormente. En otra realización, el anticuerpo tiene al menos aproximadamente el 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos de región variable con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, al menos aproximadamente el 90 %, 95 % o 99 % de identidad de región variable con SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 5).

#### 55 IIb. Anticuerpos anti-PD-1

Los anticuerpos anti-PD-1 humanos (o dominios VH y/o VL derivados de los mismos) adecuados para usarse en la invención pueden generarse usando métodos bien conocidos en la técnica. Como alternativa, se pueden usar anticuerpos anti-PD-1 reconocidos en la técnica. Por ejemplo, se pueden usar los anticuerpos monoclonales 5C4 (denominado aquí nivolumab), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3, y 5F4, descritos en el documento WO 2006/121168, cuyas enseñanzas se incorporan en la presente por referencia. Otros anticuerpos PD-1 conocidos incluyen lambrolizumab (MK-3475), descrito como h409A11 en el documento WO 2008/156712, y AMP-514 descrito en el documento WO 2012/145493. Los anticuerpos PD-1 conocidos adicionales y otros inhibidores de PD-1 incluyen aquellos descritos en el documento WO 2009/014708 y el documento WO 2009/114335. También se pueden usar



anticuerpos reconocidos en la técnica que compitan con cualquiera de estos anticuerpos por unión a PD-1.

Un ejemplo de anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab, que comprende cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 17 y 18, respectivamente, o fragmentos de unión a antígeno y variantes del mismo. En otras realizaciones, el anticuerpo comprende las CDR de las cadenas pesada y ligera o regiones variables de nivolumab. Por consiguiente, en una realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH de nivolumab que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la VL de nivolumab que tiene las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 21. En otra realización, el anticuerpo comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 23, 24 y 25, respectivamente, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 26, 27 y 28, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende regiones VH y/o VL que tienen las secuencias de aminoácidos mostradas en SEQ ID NO: 19 y/o SEQ ID NO: 21, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende las regiones variable de la cadena pesada (VH) y/o variable de la cadena ligera (VL) codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en SEQ ID NO: 20 y/o SEQ ID NO: 22, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo compete por la unión con y/o se une al mismo epítipo en PD-1 que los anticuerpos mencionados anteriormente. En otra realización, el anticuerpo tiene al menos aproximadamente el 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos de la región variable con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, al menos aproximadamente el 90 %, 95 % o 99 % de identidad de región variable con SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 21).

### III. Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración a pacientes humanos se formulan normalmente para la administración parenteral, por ejemplo, en un vehículo líquido, o son adecuadas para su reconstitución en solución o suspensión líquida para la administración intravenosa.

En general, tales composiciones comprenden normalmente un transportador farmacéuticamente aceptable. Según se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por un organismo de control o que aparece en la Farmacopea de Estados Unidos u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, particularmente en seres humanos. El término "transportador" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el cual se administra el compuesto. Estos transportadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluyendo los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de ajonjolí, ricinoleato de polietilenglicol glicerilo y similares. Puede emplearse como transportador agua o solución salina acuosa y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol, particularmente para soluciones inyectables (por ejemplo, que comprendan un anticuerpo anti-KIR o anti-PD-1). Las composiciones líquidas para administración parenteral pueden formularse para la administración por inyección o infusión continua. Las vías de administración por inyección o infusión incluyen la intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intratecal y subcutánea. En una realización, los anticuerpos anti-KIR y/o anti-PD-1 se administran por vía intravenosa (por ejemplo, por separado o juntos, cada uno, por ejemplo, durante el transcurso de una hora, 90 minutos o dos horas).

### IV. Poblaciones de pacientes

En el presente documento se proporcionan métodos eficaces para tratar el cáncer (por ejemplo, tumores sólidos resistentes avanzados o neoplasias malignas hematológicas) en un paciente humano, usando una combinación de un anticuerpo anti-KIR y un anticuerpo anti-PD-1.

Debido a que estos métodos funcionan al potenciar una respuesta inmunitaria al bloquear receptores inhibidores en linfocitos T y linfocitos NK, son aplicables a una muy amplia variedad de cánceres. En una realización, el paciente humano padece cáncer pulmonar no microcítico (CPNM), carcinoma de células renales (CCR), melanoma (por ejemplo, melanoma maligno cutáneo o intraocular), cáncer colorrectal o carcinoma ovárico seroso. Los ejemplos de cánceres adicionales que pueden tratarse usando una combinación de un anticuerpo anti-PD-1 y un anticuerpo anti-KIR incluyen cáncer de hígado, cáncer de hueso, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer uterino, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer testicular, cáncer uterino, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma del cuello uterino, carcinoma de la vagina, carcinoma de la vulva, linfoma no Hodgkin, cáncer del esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroidea, cáncer de la glándula paratiroidea, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejido blando, cáncer de la uretra, cáncer del pene, tumores sólidos de la infancia, linfoma linfocítico, cáncer de la vejiga, cáncer del riñón o uréter, carcinoma de la pelvis renal, neoplasma del sistema nervioso central (SNC), linfoma de SNC primario, angiogénesis tumoral, tumor de la médula espinal, glioma de tronco encefálico, adenoma hipofisario, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas, cánceres inducidos de forma ambiental, incluyendo los inducidos por asbesto, neoplasias malignas hematológicas incluyendo, por ejemplo, mieloma múltiple, linfoma de linfocitos B, linfoma de Hodgkin/linfoma de linfocitos B mediastínico primario, linfomas no Hodgkin, linfoma mielóide agudo, leucemia mielógena crónica, leucemia linfóide crónica, linfoma folicular, linfoma de linfocitos B grandes difuso, linfoma de Burkitt, linfoma de células grandes inmunoblástico, linfoma linfoblástico de precursores B, linfoma de células de

manto, leucemia linfoblástica aguda, micosis fungoide, linfoma de células grandes anaplásico, linfoma de linfocitos T y linfoma linfoblástico de precursores T, y cualquiera de las combinaciones de dichos cánceres. La presente invención también es aplicable al tratamiento de cánceres metastásicos.

- 5 Los pacientes pueden analizarse o seleccionados para uno o más de los atributos clínicos descritos anteriormente antes de, durante o después del tratamiento.

#### V. Terapia de combinación

- 10 Las terapias de combinación proporcionadas en el presente documento implican la administración de un anticuerpo anti-KIR y de otro anticuerpo que bloquea un receptor inmunitario inhibidor (por ejemplo, un receptor que después de la unión a su ligando natural inhibe/neutraliza una actividad, tal como una actividad citotóxica), tal como un anticuerpo anti-PD-1, para tratar sujetos aquejados de cáncer (por ejemplo, tumores sólidos resistentes avanzados).

- 15 En una realización, la invención proporciona un anticuerpo anti-KIR y un anticuerpo anti-PD-1 en combinación para tratar sujetos que tengan un tumor sólido (por ejemplo, un tumor sólido resistente avanzado). En una realización particular, el anticuerpo anti-KIR es lirilumab. En otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab.

- 20 Según se usa en el presente documento, la administración adjunta o combinada (coadministración) incluye la administración simultánea de los compuestos en la misma forma farmacéutica, o en una distinta, o la administración separada de los compuestos (por ejemplo, administración secuencial). Así, los anticuerpos anti-KIR y anti-PD-1 pueden administrarse de forma simultánea en una formulación única. Como alternativa, los anticuerpos anti-KIR y anti-PD-1 pueden formularse para la administración separada y se administran de forma simultánea o secuencial.

- 25 Por ejemplo, el anticuerpo anti-PD-1 puede administrarse (por ejemplo, inmediatamente seguido por) la administración del anticuerpo anti-KIR, o viceversa. En una realización, el anticuerpo anti-PD-1 se administra antes de la administración del anticuerpo anti-KIR en los días 1 y 29. En otra realización, el anticuerpo anti-KIR se administra dentro de los 30 minutos después de la administración del anticuerpo anti-PD-1. Tal administración simultánea o secuencial preferentemente da como resultado que ambos anticuerpos estén presentes de forma  
30 simultánea en los pacientes tratados.

#### VI. Protocolos de tratamiento

- 35 Los protocolos de tratamiento adecuados para tratar un paciente humano aquejado de cáncer incluyen, por ejemplo, administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de:

- (a) un anticuerpo anti-KIR que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5,  
40 (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tienen la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 21,

- 45 en los que el método comprende al menos un ciclo de administración, en donde el ciclo es un periodo de ocho semanas, en el que para cada uno de los al menos un ciclo, se administran dos dosis de anticuerpo anti-KIR a una dosis de 0.1-20 mg/kg de peso corporal y se administran cuatro dosis del anticuerpo anti-PD-1 a una dosis de 0,1-20 mg/kg de peso corporal.

- 50 En determinadas realizaciones, cada dosis del anticuerpo anti-KIR se administra a 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 o 20 mg/kg. En realizaciones preferentes, cada dosis del anticuerpo anti-KIR se administra a 0,3, 1 o 3 mg/kg.

- 55 En otras realizaciones, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 o 20 mg/kg de peso corporal. En realizaciones preferentes, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a 0,3, 1, 3 o 10 mg/kg. En realizaciones más preferentes, el anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 3 mg/kg.

En una realización, el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 se administran a las siguientes dosis:

- 60 (a) 0,1 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;  
(b) 0,3 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;  
(c) 1 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;  
(d) 3 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;  
(e) 6 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1; o  
(f) 10 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1.

- 65 En otra realización, la dosis del anticuerpo anti-KIR y/o anti-PD-1 se varía con el tiempo. Por ejemplo, el anticuerpo anti-KIR y/o el anticuerpo anti-PD-1 pueden administrarse inicialmente a una dosis alta y pueden reducirse a lo largo

del tiempo. En otra realización, el anticuerpo anti-KIR y/o el anticuerpo anti-PD-1 se administran inicialmente a una dosis baja y se aumenta a los largo del tiempo.

- 5 En otra realización, la cantidad de los anticuerpos anti-KIR y/o anti-PD-1 administrada es constante para cada dosis. En otra realización, la cantidad de anticuerpo administrada varía con cada dosis. Por ejemplo, la dosis de mantenimiento (o continuación) del anticuerpo puede ser más alta o la misma que la dosis de carga que es la que se administra primero. En otra realización, la dosis de mantenimiento del anticuerpo puede ser más baja o igual a la dosis de carga.
- 10 En otra realización, los anticuerpos anti-KIR y/o anti-PD-1 se formulan para administración intravenosa. En una realización, el anticuerpo anti-PD-1 se administra en los días 1, 15, 29 y 43 de cada ciclo. En otra realización, el anticuerpo anti-KIR se administra los días 1 y 29 de cada ciclo.
- 15 En otras realizaciones, los anticuerpos anti-KIR y/o anti-PD-1 se administran una vez por semana, una vez cada tres o dos semanas, una vez al mes o mientras se observe un beneficio clínico, o hasta que haya una respuesta completa, enfermedad progresiva confirmada o toxicidad que no se pueda controlar.
- 20 En otra realización, un ciclo de administración es de ocho semanas, el cual puede repetirse, según sea necesario. En otra realización, el tratamiento consiste en hasta 12 ciclos.
- 25 En otra realización, se administran 4 dosis del anticuerpo anti-PD-1 por ciclo de ocho semanas. En otra realización, se administran 2 dosis del anticuerpo anti-KIR por ciclo de ocho semanas.
- En otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 y el anticuerpo anti-KIR se administran como una primera línea de tratamiento (por ejemplo, el tratamiento inicial o primero). En otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 y el anticuerpo anti-KIR se administran como una segunda línea de tratamiento (por ejemplo, después del tratamiento inicial o primero, incluyendo después de la caída y/o cuando el primer tratamiento haya fracasado).
- 30 En otro aspecto, la invención presenta cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, en las que el anticuerpo anti-PD-1 se reemplaza con, o se combina con, un anticuerpo anti-PD-L1 o anti-PD-L2.

## VII. Resultados

Con respecto a las lesiones diana, las respuestas a la terapia pueden incluir:

35

Respuesta completa (RC) (RECIST V1.1)	Desaparición de todas las lesiones diana. Cualquier ganglio linfático patológico (ya sea diana o no diana) debe tener reducción del eje corto hasta < 10 mm.
Respuesta parcial (RP) (RECIST V1.1)	Al menos una disminución del 30 % en la suma de los diámetros de lesiones diana, tomando como referencia los diámetros de suma de medida inicial.
Enfermedad progresiva (EP) (RECIST V1.1)	Al menos un aumento del 20 % en la suma de los diámetros de lesiones diana, tomando como referencia la suma más pequeña en el estudio (esto incluye la suma de medida inicial si es la más pequeña en el estudio). Además del aumento relativo del 20 %, la suma también debe demostrar un aumento absoluto de al menos 5 mm (Nota: la aparición de una o más lesiones nuevas también se considera progresión).
Enfermedad estable (EE) (RECIST V1.1)	Ni retracción suficiente para calificar para RC ni aumento suficiente para calificar para RP, tomando como referencia los diámetros de suma más pequeños mientras se está en el estudio.
Respuesta completa inmuno-relacionada (RCir) (irRECIST)	Desaparición de todas las lesiones diana. Cualquier ganglio linfático patológico (ya sea diana o no diana) debe tener una reducción del eje corto hasta < 10 mm.
Respuesta parcial inmuno-relacionada (RPir) (irRECIST)	Una disminución de al menos el 30 % en la suma de diámetros de lesiones dianas y todas las nuevas lesiones medibles (es decir, Cambio Porcentual de la Carga Tumoral), tomando como referencia los diámetros de suma de medida inicial. Nota: la aparición de nuevas lesiones medibles se factoriza en la Carga Tumoral global, pero no califica automáticamente como enfermedad progresiva hasta que la suma de los diámetros aumente en $\geq 20\%$ cuando se compara con la cifra mínima.

Enfermedad progresiva inmuno-relacionada (EPir) (irRECIST)	Un aumento de al menos el 20 % de la Carga Tumoral (es decir, la suma de diámetros de lesiones grandes, y cualquier lesión medible nueva) tomando como referencia la suma más pequeña en el estudio (esto incluye la suma de la medida de base si es la más pequeña del estudio). Además del aumento relativo del 20 %, la suma también debe demostrar un aumento absoluto de al menos 5 mm. Evaluaciones de tumor usando criterios inmuno-relacionados para enfermedad progresiva incorporan la contribución de nuevas lesiones medibles. Cada cambio en porcentaje neto en la carga tumoral por evaluación representa el tamaño y la cinética de crecimiento de lesiones tanto antiguas como nuevas a medida que aparecen.
Enfermedad estable inmuno-relacionada (EEir) (irRECIST)	Ni retracción suficiente para calificar para RPir ni aumento suficiente como para calificar para Eir, tomando como referencia los diámetros de suma más pequeños mientras se está en el estudio.

Con respecto a lesiones no diana, las respuestas a terapia pueden incluir:

Respuesta completa (RC) (RECIST V1.1)	Desaparición de todas las lesiones no diana. Todos los ganglios linfáticos deben ser no patológicos en tamaño (eje corto < 10 mm).
No-RC/no-EP (RECIST V1.1)	Persistencia de una o más lesiones no diana.
Enfermedad progresiva (EP) (RECIST V1.1)	Progresión inequívoca de lesiones no diana existentes. La aparición de una o más lesiones nuevas también se considera progresión.
Respuesta completa inmuno-relacionada (RCir) (irRECIST)	Desaparición de todas las lesiones no diana. Todos los ganglios linfáticos deben ser no patológicos en tamaño (eje corto <10 mm).
Enfermedad progresiva inmuno-relacionada (EPir) (irRECIST)	Los aumentos del número o tamaño de lesiones no diana no constituyen enfermedad progresiva a menos que/hasta que la Carga Tumoral aumente el 20 % (es decir, la suma de los diámetros en la cifra mínima de lesiones objetivo y cualquiera de las lesiones medibles nuevas aumenta en la cantidad necesaria). Lesiones no diana no se consideran en la definición de Enfermedad Estable y Respuesta Parcial.

5 Los pacientes tratados de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento preferentemente experimentan mejora en al menos un signo de cáncer. En una realización, la mejora se mide por una reducción en la cantidad y/o tamaño de lesiones tumorales medibles. En otra realización, las lesiones pueden medirse en rayos x de pecho o películas de TC o RMN. En otra realización, se puede usar citología o histología para evaluar la sensibilidad a una terapia.

10 En una realización, el paciente tratado presenta una respuesta completa (RC), una respuesta parcial (RP), enfermedad estable (EE), enfermedad completa inmuno-relacionada (ECir), respuesta parcial inmuno-relacionada (RPir) o enfermedad estable inmuno-relacionada (EEir). En otra realización, el paciente tratado experimenta retracción de tumor y/o disminución de la velocidad de crecimiento, es decir, supresión de crecimiento tumoral. En otra realización, se reduce o inhibe la proliferación celular no deseada. En otra realización más, puede presentarse uno o más de los siguientes: se puede reducir el número de células cancerosas; el tamaño tumoral se puede reducir; la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos se puede inhibir, retrasar, ralentizar o detener; la metástasis tumoral puede ralentizarse o inhibirse; se puede inhibir el crecimiento tumoral; la recidiva tumoral puede prevenirse o retrasarse; uno o más de los síntomas asociados con el cáncer pueden aliviarse hasta cierto punto.

20 En otras realizaciones, la administración de cantidades eficaces del anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PID-1 de acuerdo con cualquiera de los métodos proporcionados en el presente documento, produce al menos un efecto terapéutico seleccionado del grupo que consiste en reducción en tamaño de un tumor, reducción en el número de lesiones metastásicas que aparecen a lo largo del tiempo, remisión completa, remisión parcial o enfermedad estable.

25 En aún otras realizaciones, los métodos de tratamiento producen una tasa de beneficio clínico comparable (TBC = RC + RP + DT ≥ 6 meses) mejor que la lograda por un anticuerpo anti-KIR o anticuerpo anti-PD-1 solo. En otras realizaciones, la mejora de la tasa de beneficio clínico es de aproximadamente del 20 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o más, en comparación con un anticuerpo anti-KIR o anticuerpo anti-PID-1 solo.

30 VIII. Kits y formas farmacéuticas unitarias

35 En el presente documento también se proporcionan kits que incluyen una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo anti-KIR, tal como lirilumab, y un anticuerpo anti-PD-1, tal como nivolumab, y un transportador farmacéuticamente aceptable, en una cantidad terapéuticamente eficaz adaptada para su uso en los métodos anteriores. De forma opcional, los kits también pueden incluir instrucciones, por ejemplo, que comprendan pautas posológicas, para permitir a un practicante (por ejemplo, un médico, enfermera o paciente) administrar la

composición contenida en los mismos para administrar la composición a un paciente que tenga cáncer (por ejemplo, un tumor sólido). El kit también puede incluir una jeringa.

5 Opcionalmente, los kits incluyen múltiples envases de las composiciones farmacéuticas de dosis única conteniendo cada uno una cantidad eficaz del anticuerpo anti-KIR o anti-PD-1 para una individual administración en conformidad con los métodos proporcionados anteriormente. Los instrumentos o dispositivos necesarios para administrar la composición (o composiciones) farmacéuticas también pueden estar incluidos en los kits. Por ejemplo, un kit puede proporcionar una o más jeringas prerrellenadas que contengan una cantidad del anticuerpo anti-KIR o anti-PD-1.

10 En una realización, la presente invención proporciona un kit para tratar un cáncer en un paciente humano, comprendiendo el kit:

15 (a) una dosis de un anticuerpo anti-KIR que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5.

(b) una dosis de un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 21, y

20 (c) instrucciones para el uso del anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 en los métodos descritos en el presente documento.

Los siguientes ejemplos son simplemente ilustrativos y no se deben considerar de ningún modo como limitativos del alcance de la presente divulgación.

## 25 Ejemplos

### Ejemplo 1: Farmacología preclínica del anticuerpo anti-PD-1 (nivolumab)

30 Nivolumab es un anticuerpo monoclonal de isotipo IgG4 (kappa) completamente humano que se une a PD-1 con alta afinidad y especificidad, impidiendo así la unión a sus ligandos PD-L1 y PD-L2 (véase el documento WO 2006/121168). La  $K_D$  para la unión de nivolumab a PD-1 se ha determinado como de aproximadamente  $10^{-9}$  M medida por análisis de resonancia de plasmón superficial (Biacore) (véase el documento WO 2006/121168), y alrededor de  $2,9 \times 10^{-12}$  M según se determina por interferometría de biocapa (ForteBio). Nivolumab no se une a otros miembros de la familia relacionados, tales como BTLA, CTLA-4, ICOS o CD28. Pruebas preclínicas de nivolumab demostraron que la unión a PD-1 da como resultado la proliferación de linfocitos T potenciada y la liberación de interferón gama (IFN-gamma) *in vitro* (véase el documento WO 2006/121168). Las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y ligera de nivolumab se proporcionan en las SEQ ID NO: 17 y 18 respectivamente.

### 40 Ejemplo 2: Baja toxicidad *in vivo* del anticuerpo anti-PD-1 (nivolumab)

Los estudios de toxicología en macacos confirmaron que nivolumab era bien tolerado a dosis de hasta 50 mg/kg proporcionadas dos veces por semana para 27 dosis. Los hallazgos relacionados con el fármaco se limitaron a una disminución reversible en triyodotironina (T3) del 28 %, sin anomalías concomitantes en otros marcadores de la función tiroidea (datos no mostrados).

### Ejemplo 3: Farmacología clínica y seguridad de los anticuerpos anti-PD-1.

50 A partir de mayo de 2011 se trataron 273 sujetos con nivolumab en cuatro estudios de Fase I. Uno fue un estudio de sujetos con infección por hepatitis C activa, dos fueron estudios de aumento escalonado de la dosis en sujetos con neoplasias malignas avanzadas, y el otro fue un estudio en combinación con Ipilimumab. Un total de 273 sujetos recibieron una o más dosis de nivolumab a dosis de 0,3 a 10 mg/kg. Ninguna dosis máxima tolerada (DMT) fue M/56082-EP alcanzada. No hubo patrón de incidencia, gravedad o relación de acontecimientos adversos (los AA) con la dosis o con el tipo de tumor. Veintitrés sujetos (8,4 %) tuvieron acontecimientos adversos graves (los AAG) relacionados con nivolumab.

60 En un estudio (CA209001), 39 sujetos recibieron una única dosis de nivolumab a 0,3, 1, 3 o 10 mg/kg con una posibilidad de retratamiento a los tres meses. Todos los sujetos tuvieron al menos un AA, y de ellos, 35 (88 %) estaban relacionados con el tratamiento. Los AA más frecuentes, independientemente de la causalidad fueron fatiga (56 %), náuseas (44 %), proteinuria (38 %), estreñimiento (33 %), dolor de espalda (33 %), sequedad de boca (28 %), vómito (28 %), sarpullido (26 %), disnea (26 %) y anorexia (23 %). Se informaron los AA relacionados con el tratamiento en 35 de 39 (90 %) de los sujetos. De ellos, 11 experimentaron AA de grado 3, y un sujeto tuvo un recuento linfocitario reducido de grado 4. Hubo 68 AAG y tres estuvieron relacionados con el tratamiento (anemia de grado 2, hipotiroidismo de grado 2 y colitis de grado 3). Entre los 12 fallecimientos, ninguna se consideró relacionada con nivolumab.

- En un estudio de Fase I más grande (CA209003) que todavía está en curso, 169 sujetos recibieron múltiples dosis de nivolumab a 0,1, 0,3, 1, 3 y 10 mg/kg, a un intervalo de cada dos semanas. Ciento cuarenta (83 %) sujetos comunicaron al menos un AA, el más común de los cuales no difirió claramente de los enumerados anteriormente. Esto concuerda con la experiencia de seguridad observada en la administración de única dosis de nivolumab. Los
- 5 AA relacionados con el tratamiento más comunes fueron fatiga (22 %), sarpullido (15 %), prurito (11 %), diarrea (9 %) y náuseas (8 %). Sesenta y cinco (38 %) sujetos experimentaron AA de grado 3 o 4 y, de ellos, 23 sujetos tuvieron AA relacionados con el tratamiento. Cincuenta y ocho (34 %) sujetos comunicaron AAG, todos los cuales se presentaron en los grupos de tratamiento de 1, 3 o 10 mg/kg y, de ellos, 16 (9 %) sujetos tuvieron AAG que
- 10 estuvieron relacionados con el tratamiento. Los tipos de AAG relacionados con el tratamiento incluyeron endocrinopatías (hipertiroidismo, hipofisitis, insuficiencia corticosuprarrenal secundaria, lipasa aumentada), toxicidades gastrointestinales (dolor abdominal, náuseas, vómito, deshidratación, diarrea, colitis), hepatotoxicidades (hepatitis, ALT, AST y fosfatasa alcalina aumentadas), toxicidades pulmonares (disnea, neumonitis, síndrome de dificultad respiratoria aguda) y otras toxicidades (fatiga, celulitis, reacción relacionada con infusión, mioclonía, neoplasia maligna, síndrome mielodisplásico). Al 30 de noviembre de 2011, se habían comunicado 33 fallecimientos; dos sujetos a la dosis de 0,1 mg/kg, ocho sujetos a la dosis de 1 mg/kg, tres sujetos a la dosis de 3 mg/kg y 20
- 15 sujetos a la dosis de 10 mg/kg. Treinta fallecimientos se consideraron secundarias a la evolución de la enfermedad y una se informó como debida a miocardiopatía isquémica y no se consideró relacionada con el fármaco. Dos sujetos tuvieron fallecimientos relacionadas con el fármaco. Un sujeto, tratado con 10 mg/kg, tuvo neumonitis de grado 4 y falleció con septicemia de grado 5. El otro sujeto, tratado con 1 mg/kg, desarrolló neumonitis de grado 3 y síndrome de dificultad respiratoria aguda de grado 4 y falleció con septicemia de grado 5. Ningún sujeto recibió esteroides hasta que los síntomas pulmonares fueron graves. Se conocen en la técnica algoritmos de abordaje, incluyendo el uso de agentes inmunosupresores tales como corticosteroides e infliximab, para tratar la neumonitis y el síndrome de dificultad respiratoria aguda.
- 25 Los resultados preliminares demostraron actividad clínica en ambos de los ensayos mencionadas anteriormente. De los 39 sujetos en CA209001, tres sujetos tuvieron respuesta parcial (carcinoma colorrectal, melanoma y carcinoma de células renales) y diez sujetos tuvieron enfermedad estable. En CA209003, 91 sujetos fueron evaluables para respuesta tumoral y se informaron respuestas completas o parciales a niveles de dosis de 1, 3 y 10 mg/kg en sujetos con cáncer pulmonar no microcítico, carcinoma de células renales y melanoma. Los datos de estos ensayos clínicos
- 30 en marcha se informaron recientemente en Topalian SL, *et al.*, New Eng J Med 2012; 366(26):2443-2454 (véase también el documento WO 2008/156712 (h409A11) y Hamid O *et al.*, New Eng J Med 2013; 369:134-144).

#### **Ejemplo 4: Farmacocinética del anticuerpo anti-PD-1 (nivolumab)**

- 35 Un análisis farmacocinético de dosis individual de 39 sujetos con cáncer a los que se les administrado nivolumab a 0,3, 1, 3 y 10 mg/kg, reveló que el  $T_{m\acute{a}x}$  medio entre dosis individuales varió de 1,6 a 3 horas, con valores individuales variando de 0,9 a 7 horas. La farmacocinética de nivolumab fue lineal en el intervalo de 0,3 a 10 mg/kg, con aumentos proporcionales a dosis en la concentración sérica máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) y área bajo la curva de concentración-tiempo desde tiempo cero a infinito ( $ABC_{INF}$ ), con variabilidad entre sujetos baja a moderada
- 40 observada en cada nivel de dosis. La semivida de eliminación terminal media de nivolumab fue de 17 a 25 días, lo cual concuerda con la semivida de IgG4 endógena. Tanto la eliminación como la distribución de nivolumab fueron independientes de la dosis (datos no mostrados).

#### **Ejemplo 5: Ensayo clínico de Fase I con IPH-2101**

- 45 IPH-2101 (conocido también como 1-7F9 y descrito en el documento WO 2006/003179) es un anticuerpo monoclonal anti-KIR completamente humano que se une específicamente, y con alta afinidad, a KIR2DL-1, 2 y 3, y a KIR2DS-1 y 2, impidiendo así la interacción entre KIR y HLA-C. Se ha finalizado un ensayo clínico de Fase I con IPH-2101 en pacientes de LMA. La administración única a las dosis de 0,0003, 0,003, 0,015, 0,075, 0,3, 1 y 3 mg/kg
- 50 no alcanzó una dosis tolerada de grado máximo. Se encuentran en marcha dos estudios de Fase I y tres estudios de Fase II en pacientes con LMA o mieloma múltiple. En estos estudios, se probaron diversos niveles de dosis de hasta 3 mg/kg a un intervalo de cada cuatro semanas y el número máximo de ciclos administrados fue de seis. Los estudios de farmacocinética sugirieron una semivida de 12-14 días a dosis más altas que 0,3 mg/kg. A una dosis de 0,075 mg/kg, se observó ocupación de KIR completa (>90 %) durante menos de 7 días. A una dosis de 0,3 mg/kg, la ocupación de KIR disminuyó a menos del 90 %, empezando el día 28. A una dosis de 3 mg/kg se logró una ocupación de KIR completa sostenida durante cuatro semanas.
- 55

- A partir del 1 de diciembre de 2011, estuvieron disponibles los datos de seguridad clínica de 136 pacientes de estos ensayos. Se comunicaron acontecimientos adversos (AA) en 128 de 136 (94 %) sujetos e incluyeron 183 de 734
- 60 (25 %) informes de que estaban posiblemente, probablemente o definitivamente relacionados con IPH-2101. Los AA que se comunicaron en más de un sujeto incluyeron síntomas generales (escalofríos, fiebre, fatiga, debilidad), síntomas gastrointestinales (náuseas, vómito, diarrea), síntomas neurológicos (mareo, cefaleas, temblores), síntomas pulmonares (disnea), síntomas cutáneos (eritema, prurito, sarpullido), otros (sofocos, hipertensión, espasmos musculares, mialgia) y anomalías en los análisis de laboratorio (hiperpotasemia, lipasa aumentada,
- 65 recuentos de leucocitos disminuidos, neutrófilos y plaquetas). Estos acontecimientos fueron generalmente de Grado 1 y Grado 2 y tendieron a ser más frecuentes a dosis mayores de 1 mg/kg. Solo un paciente con mieloma múltiple

experimentó un acontecimiento adverso grave (AAG), el cual se debió a insuficiencia renal aguda. Aunque se consideró relacionado con IPH-2101, el paciente tuvo también progresión de la enfermedad. En conjunto, IPH-2101 fue tolerable a dosis de 0,003 a 3 mg/kg.

#### 5 Ejemplo 6: Farmacología preclínica del anticuerpo anti-KIR (lirilumab)

10 Lirilumab es un anticuerpo monoclonal IgG4 completamente humano que se une específicamente y con alta afinidad a un subconjunto de KIR, concretamente KIR2DL-1, 2 y 3, y KIR2DS-1 y 2. El análisis de resonancia de plasmón superficial demostró que la afinidad monovalente media de lirilumab por KIR2DL1 soluble recombinante fue de  $2,04 \times 10^{-8}$  M (d.t.  $0,31 \times 10^{-8}$ ) y la de KIR2DL3 fue de  $3,01 \times 10^{-10}$  M (d.t.  $0,41 \times 10^{-10}$ ). Las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y ligera de LIRILUMAB se proporcionan en las SEQ ID NO: 1 y 2, respectivamente.

#### 15 Ejemplo 7: Falta de toxicidad del anticuerpo anti-KIR (lirilumab) en ratones

15 Ni lirilumab ni IPH-2101 se unen a linfocitos NK de primates no humanos u otras especies usadas tradicionalmente para pruebas de seguridad. Sin embargo, Ly49C/I son receptores inhibidores de murino que son funcionalmente homólogos al KIR humano. No hubo hallazgos adversos en ratones tratados con lirilumab a 10 mg/kg una vez por semana durante cuatro semanas, o con el anticuerpo anti-Ly49 sustituto 5E6 F(ab')<sub>2</sub> dos veces por semana durante 20 13 semanas (datos no mostrados).

#### 20 Ejemplo 8: Farmacología clínica y seguridad del anticuerpo anti-KIR (lirilumab)

25 Se describen anteriormente, en el ejemplo 5, los datos de seguridad para los 136 sujetos tratados con IPH-2101. Lirilumab comprende las mismas regiones variables de la cadena pesada y ligera que IPH-2101 (conocido también como 1-7F9) y, por lo tanto, se une al mismo epítipo que IPH-2101, pero difiere de IPH-2101 en que (1) se prepara en células de ovario de hámster chino (CHO), mientras que IPH-2101 se prepara a partir de células de hibridoma, y (2) se ha introducido en lirilumab una mutación estabilizadora de la bisagra (S231P).

30 La evaluación farmacodinámica preliminar de la ocupación de KIR reveló que los tres sujetos que recibieron 0,015 mg/kg de lirilumab tuvieron saturación completa de KIR2D (>90 % de ocupación de KIR) durante menos de 1 semana. Los sujetos que recibieron 0,3 mg/kg tuvieron saturación completa durante al menos 8 semanas, la cual se prolongó todavía más en los que recibieron dosis más altas. La mitad de los sujetos (0,015, 0,3, 1 y 3 mg/kg), incluyendo los tres en la última cohorte probada, tuvieron aumentos transitorios modestos de los niveles de interferón gamma (datos no mostrados).

35 Además, se ha finalizado un estudio de Fase I en sujetos con neoplasias malignas hematológicas avanzadas (Vey N *et. al.* (2012) Blood 120(22):4317-23), que incluía un anticuerpo relacionado, IPH2101 (también designado 1-7F9 en el documento WO 2006/003179), que tenía regiones variables idénticas a las de lirilumab, pero que carecía de una mutación de la bisagra S241P estabilizadora). A partir del 7 de mayo de 2012, veinte sujetos recibieron IPH2101 a niveles de dosis de 0,015, 0,3, 1, 3, 6 y 10 mg/kg. Seis sujetos tenían tumores sólidos (4 ováricos, 1 endometrial, 1 40 cáncer de mama) y 14 tenían neoplasias hematológicas. Los sujetos en los tres niveles de dosis inferiores recibieron cuatro dosis proporcionadas a un intervalo de cada cuatro semanas. Los sujetos a los niveles de dosis más altos de 3, 6 y 10 mg/kg recibieron una dosis. No hubo toxicidades limitativas de la dosis. No hubo una tendencia en la frecuencia de los AA en relación al nivel de dosis. Dieciocho de 20 (90 %) sujetos informaron AA. La mayoría de los 45 acontecimientos fueron de grado 1 (65 %) o grado 2 (23 %) de gravedad. De un total de 111 AA, 38 (34 %) se consideraron relacionados con lirilumab, los más comunes de los cuales fueron fatiga (16 %), dolor de cabeza (13 %), prurito (11 %), astenia (5 %), estreñimiento (5 %), hipertensión (5 %), edema periférico (5 %) y sarpullido (5 %). Solo hubo un acontecimiento de grado 3 que estuvo relacionado con lirilumab, que se presentó en un sujeto que recibió una dosis a 6 mg/kg. Esto fue un aumento de la lipasa en un sujeto que entró en el estudio con un 50 aumento de grado 2 de la lipasa que 22 días más tarde regresó a la medida inicial. No hubo AAG.

#### Ejemplo 9: Farmacocinética del anticuerpo anti-KIR (lirilumab)

55 Están pendientes los resultados de farmacocinética de un estudio de fase I en marcha. Sin embargo, un modelo de FC sugiere que el perfil FC de lirilumab es probable que sea comparable al de IPH-2101. En ensayos clínicos de fase I de IPH-2101 anteriores, en sujetos con LMA y mieloma múltiple, se encontró un modelo de 2 compartimientos con eliminación de primer orden para describir adecuadamente los datos con eliminación dependiente de la dosis, de tal forma que la eliminación disminuía con dosis crecientes. La semivida terminal a la dosis más alta (3 mg/kg) se determinó como de 18 días, lo cual concuerda con los valores informados en la literatura.

#### 60 Ejemplo 10: Inhibición de crecimiento tumoral *in vivo* mediante tratamiento de combinación con el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1

65 Se llevó a cabo un experimento en un modelo de tumor sólido de murino para analizar la hipótesis de que la combinación de anti-KIR y anti-PD-1 potenciaría la eficacia antitumoral. El fundamento fue utilizar la manipulación farmacéutica para regular de forma coordinada inmunidad innata y adaptiva, y recapitular la biología observada en

pacientes de posalotrasplante, quienes tienen una falta de coincidencia de KIR. Tanto nivolumab (anticuerpo anti-PD-1 humano) como lirilumab (anticuerpo anti-KIR humano) reconocen solo secuencias humanas. Por lo tanto, se usaron para probar esta hipótesis un anticuerpo contra PD-1 específico de murino, un anticuerpo anti-Ly49 y un F(ab)2 que reconoce Ly49C/I (que es el homólogo de KIR en ratones).

5 Se inyectó a los ratones la línea celular de carcinoma de colon murino MC38 singénica y, después de la formación de tumores palpables, se distribuyeron al azar en una de cuatro cohortes para recibir IgG de control, anticuerpo anti-Ly49, anticuerpo anti-PD-1 o ambos anticuerpos. Como se muestra en la Figura 1, los ratones tratados con un anticuerpo IgG de control tuvieron rápido crecimiento de tumores (véase el panel izquierdo superior de la Figura 1).  
 10 Los ratones tratados con anticuerpo anti-Ly49 no difirieron significativamente de los animales de control (panel izquierdo inferior de la Figura 1). Los tratados con un anticuerpo anti-PD-1 de murino mostraron latencia en progresión tumoral y el 30 % de los ratones continuaron estando libres de tumor (véase el panel derecho superior de la Figura 1). Los tratados tanto con anticuerpos anti-Ly49 como anti-PD-1 tuvieron también latencia en la progresión tumoral y el 60 % de los ratones tuvieron remisión de los tumores establecidos (véase el panel derecho inferior de la Figura 1). Estos resultados proporcionan evidencia preclínica de la capacidad de un anticuerpo anti-KIR para  
 15 potenciar de forma sinérgica (es decir, más que aditivamente) la eficacia de un anticuerpo anti-PD-1 en un modelo de tumor sólido en murino.

### Ejemplo 11: Ensayo de Fase I en pacientes que tenían tumores sólidos

20 Se lleva a cabo un ensayo de fase I del anticuerpo anti-KIR (lirilumab) y anticuerpo anti-PD-1 (nivolumab) en pacientes que tienen tumores sólidos avanzados, para demostrar la eficacia, incluyendo un efecto sinérgico, de administrar lirilumab y nivolumab como un tratamiento de combinación (NCT01714739; Sanborn *et. al.*, 2013).

#### 1. Objetivos

25 Un objetivo del estudio es evaluar la seguridad y tolerabilidad de lirilumab proporcionado en combinación con nivolumab e identificar las toxicidades limitativas de la dosis (las TLD) y la dosis tolerada máxima (DTM) de la combinación, en sujetos con tumores sólidos avanzados (metastásicos y/o no resecables).

30 Otros objetivos incluyen evaluar la actividad antitumoral preliminar de la combinación de lirilumab y nivolumab en sujetos con tumores sólidos avanzados, caracterizar la farmacocinética (FC) de lirilumab y nivolumab cuando se coadministran, controlar la inmunogenicidad de lirilumab y nivolumab administrados como terapia de combinación, y evaluar el efecto farmacodinámico en tejido tumoral en subconjuntos de linfocitos infiltrantes de tumor (LIT) de  
 35 sujetos con melanoma tratados con lirilumab proporcionado en combinación con nivolumab.

Los objetivos adicionales incluyen evaluar los efectos farmacodinámicos de lirilumab frente a la dosis y/o la exposición, proporcionado en combinación con nivolumab, sobre biomarcadores en sangre periférica, incluyendo los compartimientos de linfocitos NK y linfocitos T, y proteínas séricas (citocinas y otros moduladores inmunitarios),  
 40 evaluar la actividad farmacodinámica en tejido tumoral y sangre periférica en sujetos tratados con lirilumab y nivolumab que se someten a biopsias opcionales, explorar posibles asociaciones entre medidas de biomarcadores y actividad antitumoral, caracterizar más la ocupación de KIR y la función de los NK a múltiples niveles de dosis de lirilumab, cuando se proporciona en combinación con nivolumab, evaluar la posible asociación de genotipos de KIR y HLA de sujetos con resultado clínico, y evaluar la supervivencia global con punto temporal de referencia a los tres  
 45 años después del inicio de la terapia con la combinación de lirilumab y nivolumab.

#### 2. Diseño y duración del estudio

50 El estudio es un estudio sin ocultación de fase I y se lleva a cabo en dos partes. La primera parte del estudio consiste en una evaluación del aumento progresivo de la dosis de la seguridad y tolerabilidad de lirilumab administrado con nivolumab, en sujetos con tumores sólidos avanzados. La segunda parte del estudio incluye 6 cohortes de expansión de aproximadamente 16 sujetos cada una, a ya sea la dosis máxima tolerada (DMT), dosis máxima administrada (DMA) o a una dosis alternativa. Esta parte está restringida a la enfermedad.

55 Los sujetos finalizan hasta cuatro periodos del estudio: Cribado (hasta 28 días), Tratamiento (hasta un máximo de 2 años de terapia de estudio), Seguimiento Clínico (100 días) y Seguimiento de la Supervivencia (hasta 3 años después de la primera dosis del fármaco de estudio). El periodo de tratamiento consiste en hasta 12 ciclos de tratamiento de ocho semanas. Cada ciclo de tratamiento comprende 4 dosis de nivolumab y 2 dosis de lirilumab. Nivolumab se administra los días 1, 15, 29 y 43, y lirilumab se administra los días 1 y 29 de cada ciclo de  
 60 tratamiento. En los días en donde se proporcionan ambos fármacos de estudio, nivolumab se proporciona primero, seguido por lirilumab dentro de los 30 minutos de finalización de la infusión de 60 minutos de nivolumab. Después de cada ciclo de tratamiento, la decisión de tratar un sujeto con ciclos adicionales de la terapia de estudio está basada en la evaluación del tumor (evaluación realizada entre los días 49 y 56, y finalizada antes de la primera dosis del siguiente ciclo). Las decisiones del tratamiento relacionadas con el tratamiento del sujeto están basadas  
 65 exclusivamente en criterios de respuesta inmunorrelacionada (ir), irRECIST (Volchok JD, *et. al.*, Clin Cancer Res 2009; 15:7412-7420). Los sujetos con respuesta total de irEF no confirmada, irEE, irRP o irRC no confirmada al final



de un ciclo dado continúan al siguiente ciclo de tratamiento. A los sujetos se les permite generalmente continuar la terapia de estudio hasta la primera aparición de cualquiera de los siguientes: 1) logro de irRC confirmada; 2) finalización del número máximo de ciclos, 3) tener ir-EP confirmada, 4) deterioro clínico que sugiere que a partir del tratamiento no es probable ningún beneficio adicional, 5) intolerabilidad a la terapia o 6) el sujeto cumple los criterios para interrumpir la terapia de estudio. Los sujetos entran en el periodo De Seguimiento Clínico, con visitas programadas en los días 30, 60 y 100, para controlar acontecimientos adversos.

Después de la finalización del periodo de Seguimiento Clínico, los sujetos entran en el periodo de Seguimiento De Supervivencia. Durante este periodo, se realizan visitas clínicas o un contacto telefónico cada 3 meses para evaluar el estado de supervivencia. La duración de este periodo es de hasta 3 años después de la primera dosis del fármaco de estudio. En la Figura 2 se muestra un esquema del estudio.

Los sujetos que están en remisión completa, pero que progresan durante el periodo de Seguimiento Clínico o el periodo de Seguimiento de Supervivencia, son aptos para recibir ambos fármacos de estudio, a las mismas dosis y el mismo programa que recibieron anteriormente. La terapia continúa hasta que se logra irRC confirmada, o durante un periodo de un año. Los sujetos deben de nuevo cumplir todos los criterios de elegibilidad. El fármaco de estudio se proporciona a través de una extensión del estudio, un estudio de continuación que requiere aprobación por parte de la administración sanitaria y el comité de ética responsables, o a través de otro mecanismo.

El Cribado dura hasta 28 días. El Periodo de Tratamiento dura hasta 2 años. El Periodo de Seguimiento Clínico dura 100 días. El Periodo de Seguimiento de Supervivencia dura hasta 3 años después de la primera dosis del fármaco de estudio. El tiempo total en estudio para cualquier sujeto individual no excede los 3,1 años. La duración total del estudio es de 4,5 años a partir del momento de la primera visita del primer sujeto hasta el seguimiento de supervivencia requerido del último sujeto incluido en el estudio.

### 3. Aumento escalonado de dosis

Se usa un diseño de 6+3 para evaluar la seguridad de lirilumab proporcionado en combinación con nivolumab. Las dosificaciones durante el aumento escalonado de la dosis se proporcionan a continuación en la Tabla 1.

<b>Tabla 1: Dosis durante el aumento escalonado de la dosis</b>			
<b>Nivel de dosis</b>	<b>Sujetos totales</b>	<b>Lirilumab (IV; mg/kg)</b>	<b>Nivolumab (IV; mg/kg)</b>
1	n = aproximadamente 6-12	0,1	3
2	n = aproximadamente 6-12	0,3	3
3	n = aproximadamente 6-12	1	3
4	n = aproximadamente 6-12	3	3
Total	n = aproximadamente 24-48		

El periodo de observación de la Toxicidad Limitante de Dosis (TLD) dura 8 semanas (Ciclo 1). Se tratan seis sujetos a cada nivel de dosis con expansión hasta 9 sujetos si se observan dos toxicidades limitantes de dosis en los primeros 6 sujetos. Si se presentan 0 o 1 TLD en una cohorte de 6 sujetos, se trata una nueva cohorte de 6 sujetos en el siguiente nivel de dosis más alto. Si se presentan 2 de 6 TLD, la cohorte se expande a 9 sujetos. Si 3 o más de 6, o 3 o más de 9 sujetos experimentan TLD dentro de una cohorte, entonces se determina que ese nivel de dosis ha excedido la dosis máxima tolerada (DMT). Si no se alcanza DMT en la cohorte 4, entonces cohortes adicionales a 6 mg/kg de lirilumab y 10 mg/kg de BMS 986015, proporcionados en combinación con 3 mg/kg de nivolumab, se consideran basadas en la experiencia de seguridad añadida durante el aumento escalonado de la dosis.

Para explorar adicionalmente las señales de seguridad que aparecen durante el aumento escalonado de la dosis, se acumula un total de hasta 12 sujetos a cualquier nivel de dosis. La incorporación adicional solo se permite una vez que el nivel de dosis en la cohorte se haya evaluado y declarado seguro para el aumento escalonado de la dosis. Solo las TLD en los 6-9 sujetos iniciales incorporados en un nivel de dosis se evalúan formalmente en el aumento escalonado de la dosis y la determinación posterior de la DMT. Sin embargo, se consideran en la selección de la dosis para expansión de cohortes los datos de seguridad de todos los sujetos tratados.

No se permite ningún aumento escalonado o reducción de dosis intra-sujeto. Los sujetos que se retiran del estudio durante el periodo TLD por razones que no son una TLD se reemplazan dentro del mismo nivel de dosis. Con el fin de tomar decisiones sobre el aumento escalonado de la dosis a partir de una perspectiva de seguridad, los sujetos se consideran evaluables si han recibido 3 de las 4 dosis de nivolumab programadas a lo largo del periodo de observación de 8 semanas, solo si la dosis perdida fue secundaria a razones no médicas.

El aumento escalonado de la dosis es a base del número de toxicidades limitativas de dosis (las TLD) experimentadas durante el Ciclo 1. Los 6 sujetos iniciales a cada nivel de dosis tienen evaluación en sangre periférica de marcadores de EP.

Todos los datos clínicos y de laboratorio disponibles, y la naturaleza, momento de inicio y tiempo de resolución de las TLD observados durante el aumento escalonado de la dosis se revisan para determinar si debería examinarse un programa de dosis alternativo, si se requiere. Si se establece un acuerdo, el programa alternativo se identifica mediante una enmienda del protocolo.

5

#### 4. Expansión de cohortes

El fin de las expansiones de cohortes es acumular información adicional de seguridad, tolerabilidad, eficacia preliminar y farmacodinámica con respecto a la combinación de lirilumab y nivolumab. Una vez que se caracteriza el perfil de seguridad de todas las dosis probadas y la DMT de la administración combinada de lirilumab y nivolumab se ha definido, la expansión de cohortes se inicia a la DMT, la dosis máxima administrada (DMA), o una dosis alterna. Seis cohortes de expansión se restringen a los tipos de tumor enumerados a continuación en la Tabla 2.

**Tabla 2: Tipos de tumor elegibles para expansión de cohortes**

Tipo de tumor	Sujetos totales
Histología de cáncer pulmonar no microcítico-de células escamosas	aproximadamente 16
Histología de cáncer pulmonar no microcítico-no de células escamosas	aproximadamente 16
Carcinoma de células renales con un componente de células claras	aproximadamente 16
Melanoma	aproximadamente 16
Cáncer colorrectal	aproximadamente 16
Carcinoma ovárico seroso	aproximadamente 16
Total	aproximadamente 96

15

La evaluación continua de los acontecimientos de toxicidad en las expansiones de cohortes se lleva a cabo a lo largo de la inscripción en las cohortes de expansión. Si la tasa de las TLD excede 33 %, los descubrimientos se discuten y se interrumpe una inscripción adicional. Si una cohorte de expansión se discontinúa debido a toxicidad, se inicia una nueva cohorte a un nivel de dosis más bajo que anteriormente probado.

20

La evaluación continua de los acontecimientos de toxicidad en las expansiones de cohortes se lleva a cabo a lo largo de la inscripción en las cohortes de expansión. Si la tasa de las TLD excede 33 %, los descubrimientos se discuten y se interrumpe una inscripción adicional. Si una cohorte de expansión se discontinúa debido a toxicidad, se inicia una nueva cohorte a un nivel de dosis más bajo que anteriormente probado.

25

#### 5. Tratamientos

Los tratamientos de estudio incluyen nivolumab y lirilumab. La Tabla 1 indica el nivel de dosis a utilizar para cada panel. Las cohortes de expansión se tratan a la dosis probada más alta o un nivel de dosis distinto según se seleccione el patrocinador. Para las visitas de tratamiento en donde se administran tanto lirilumab como nivolumab, nivolumab se administra primero seguido de lirilumab dentro de 30 minutos después de la finalización de la infusión de nivolumab.

35

#### 6. Toxicidades limitativas de la dosis

Lirilumab tiene el potencial de aumentar la frecuencia y gravedad de los adversos anteriormente descritos asociados con nivolumab, o de desarrollar toxicidades nuevas. La toxicidad limitativa de la dosis (TLD) se determina a base de la incidencia, intensidad y duración de los acontecimientos adversos que están relacionados con el fármaco en estudio, y que se presentan dentro de 56 días (8 semanas, hasta la finalización del Ciclo 1) del inicio del fármaco de estudio. La gravedad de los acontecimientos adversos se clasifica de acuerdo con el CTCAEv4 del NCI. La TLD hepática, no hematológica y hematológica se definen por separado como se describe a continuación.

40

Cualquiera de los siguientes acontecimientos se considera una TLD hepática:

45

- ALT o AST > 8X el LSN, independientemente de la duración
- ALT o AST > 5X y ≤ 8X el LSN, que fracasa en regresar a Grado 1 o menos dentro de 5 días, a pesar de la intervención médica
- Bilirrubina total de Grado 3
- ALT o AST > 3X el LSN y bilirrubina total simultánea > 2X el LSN

50

Cualquiera de los siguientes acontecimientos se consideran una TLD No Hematológica:

- Dolor ocular de Grado 2 o reducción de la agudeza visual que requiere tratamiento sistémico

- Dolor ocular de Grado 2 o reducción de la agudeza visual que no responde a la terapia tópica y que no mejora a Grado 1 al cabo de 2 semanas del inicio de la terapia tópica
- Toxicidad No Hepática o No Hematológica de Grado 3, con las siguientes excepciones:

5 Los siguientes acontecimientos No Hematológicos de Grado 3 no se consideran TLD:

- Anomalia electrolíticas de Grado 3 que dura menos de 72 horas, no está clínicamente complicada y se resuelve espontáneamente o responde a la intervención médica convencional
- Aumento de Grado 3 en la amilasa o lipasa que no está asociado con evidencia clínica o radiográfica de pancreatitis
- Náuseas o vómito de Grado 3 que dura menos de 48 horas, y se resuelve a Grado 1 o menos ya sea espontáneamente o con intervención médica convencional
- Fiebre de Grado 3 que dura menos de 72 horas, y no está asociada con compromiso hemodinámico (incluyendo hipotensión, o evidencia clínica o de laboratorio de deterioro por perfusión orgánica específica)
- Endocrinopatía de Grado 3 que se controla bien por reemplazo hormonal
- Crecimiento tumoral transitorio de Grado 3 (definido como dolor, irritación o sarpullido que se localiza en sitios de tumor conocido o sospechado)
- Fatiga de Grado 3
- Reacción a infusión de Grado 3 que regresa a Grado 1 en menos de 6 horas

20 Cualquiera de los siguientes acontecimientos se considera una TLD hematológica:

- Neutropenia de Grado 4 que dura más de 5 días
- Trombocitopenia de Grado 4
- Trombocitopenia de Grado 3 asociada con hemorragia clínicamente significativa
- Neutropenia febril de Grado 3 que dura más de 48 horas
- Hemólisis de Grado 3

#### 30 7. Directrices para la modificación de la dosis

El aumento escalonado o reducción de la dosis intrasujeto de liriumab y BMS-986558 no se permite en este estudio, para permitir una mejor evaluación de la seguridad y eficacia extendidas a niveles de dosis individuales.

35 Los sujetos que experimenten una TLD deben continuar con la terapia, hasta la resolución de la toxicidad. Si el acontecimiento adverso se resuelve a grado 1 o menos, o hasta el valor inicial, en gravedad dentro de 28 días, entonces la terapia se reanuda a las mismas dosis para ambos fármacos de estudio. Si la toxicidad se resuelve después de 28 días y el investigador considera que el sujeto está obteniendo beneficio clínico, entonces el sujeto es apto para reanudar los fármacos de estudio. Si después el sujeto experimenta una TLD posterior, que también se resuelve y el investigador continúa considerando que el sujeto está obteniendo beneficio clínico, entonces el sujeto es apto para reanudar los fármacos de estudio.

Se requiere a los sujetos discontinuar permanentemente ambos fármacos de estudio por lo siguiente:

- Cualquier acontecimiento adverso de grado 4, con excepción de: anomalías electrolíticas de grado 4 que se resuelven  $\leq 72$  horas, neutropenia de grado 4 de  $\leq 5$  días de duración, o linfopenia de grado 4 de  $\leq 5$  días de duración.

50 Cualquier acontecimiento adverso con riesgo clínico se evalúa caso por caso para determinar los riesgos y beneficios de continuar en terapia después de la resolución frente a interrumpir terapia permanentemente. Los acontecimientos de alto grado que implican el sistema nervioso central, ojos, hígado o pulmón, normalmente requerirían interrupción permanente, a menos que haya elementos del historial del individuo y de la evolución clínica que sugieran una probabilidad más alta de beneficio con respecto a la de riesgo con terapia continua después de la resolución.

#### 55 8. Evaluaciones de seguridad

60 Los acontecimientos adversos se evalúan continuamente durante el estudio y durante 100 días después del último tratamiento. Los acontecimientos adversos se codifican usando la versión más actual de MedDRA y se revisan para posibles significados e importancia. Los acontecimientos adversos se evalúan de acuerdo con el CTCAE del NCI versión 4.0. Deben seguirse los sujetos hasta que todos los acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento hayan recuperado los valores iniciales o se consideren irreversibles por parte del investigador.

## 9. Evaluaciones de la eficacia

La evaluación de la enfermedad con tomografía computada (TC) y/o formación de imágenes por resonancia magnética (RM), según sea adecuado, se realiza en la situación inicial y cada 8 semanas hasta progresión de la enfermedad confirmada, en la finalización del seguimiento o hasta que los sujetos se retiren del estudio. Las evaluaciones de la enfermedad en otros puntos de tiempo se realizan si el investigador está preocupado acerca de la progresión tumoral. Las respuestas tumorales se determinan para poblaciones adecuadas de sujetos, según se define por RECIST v1.1 (Eisenhauer EA, Eur J Cancer 2009; 45:228-247), así como por criterios de respuesta inmunorrelacionada, irRECIST (Wolchok JD, *et al.*, Clin Cancer Res 2009; 15:7412-7420). Las decisiones de tratamiento relacionadas con el tratamiento de los sujetos se basan exclusivamente en criterios irRECIST. Las exploraciones y mediciones se recogen centralmente para ser revisados por radiólogos independientes usando criterios irRECIST y/o RECIST v1.1, en una fecha posterior o en cualquier momento durante el estudio.

El investigador evalúa los cambios en las mediciones tumorales y respuestas tumorales usando criterios irRECIST. Los investigadores también informan el número y tamaño de lesiones nuevas que aparecen mientras se está en el estudio. Las evaluaciones de tumor en punto de tiempo se informan en el CRD a base de la evaluación de los investigadores usando criterios irRECIST. Además, las evaluaciones de puntos de tiempo RECIST v1.1 se obtienen de forma programada.

## 10. Evaluaciones de eficacia exploratoria

Se recogen datos de supervivencia global hasta 3 años a partir del inicio del tratamiento con fármaco de estudio. Se toman para todos los sujetos muestras de suero para evaluaciones la FC de lirilumab y/o nivolumab, tanto en el aumento escalonado de la dosis como en la expansión de cohortes. Las farmacocinéticas de lirilumab se obtienen a partir de la concentración sérica frente al tiempo. Los parámetros farmacocinéticos evaluados incluyen:

C <sub>máx</sub>	Concentración sérica observada máxima
T <sub>máx</sub>	Tiempo de concentración sérica observada máxima
ABC(0-T)	Área bajo la curva de tiempo de concentración en plasma a partir de tiempo cero a tiempo de última concentración cuantificable
ABC(INF)	Área bajo la curva de tiempo de concentración en plasma a partir de tiempo cero extrapolada a tiempo infinito
C <sub>mín</sub>	Concentración sérica mínima observada
ABC(TAU)	Área bajo la curva de concentración-tiempo en un intervalo de dosificación
CL	Eliminación
V <sub>ee</sub>	Volumen de distribución en estado de equilibrio estacionario
t <sub>1/2</sub>	Semivida

Los valores de los parámetros farmacocinéticos de sujetos individuales se obtienen por métodos no compartimentales por un programa de análisis farmacocinético validado. Para los análisis se usan los tiempos reales. Además, las concentraciones de fin de infusión y mínimas (C<sub>mín</sub>) de nivolumab se calculan en visitas especificadas.

Las muestras de suero se analizan para lirilumab y nivolumab por un inmunoensayo validado. Además, las muestras se depositan en bancos para el posible análisis farmacocinético exploratorio mediante un método bioanalítico ortogonal (por ejemplo, LC/MS-MS).

## 11. Evaluaciones de biomarcadores exploratorios

Las farmacodinámicas de lirilumab y nivolumab en combinación se evalúan al cuantificar biomarcadores de sangre periférica.

## 12. Evaluaciones para los pacientes durante el aumento escalonado de la dosis

Evaluación funcional de linfocitos NK y linfocitos T y ocupación de KIR: los CMSP de pretratamiento y en tratamiento se usan para investigar la relación entre la ocupación de KIR (diana de lirilumab) y la función de linfocitos NK, medido por CD107a y la expresión de INF $\gamma$  intracelular, usando citometría de flujo en un ensayo de cocultivo con células diana sustitutas. Concretamente, se aíslan linfocitos NK a partir de CMSP y se cocultivan con células diana (positivas para HLA clase I y negativas para HLA clase II) en presencia de exceso de lirilumab, para evaluar la inducción de actividad citolítica de NK a partir de células positivas para KIR en función de la dosis, el tiempo después de dosis, el grado de ocupación de KIR y los niveles en circulación de lirilumab (FC). Entender la relación entre la función de linfocitos NK con ocupación de KIR y los niveles de lirilumab en circulación es importante para establecer una dosificación del fármaco óptima y/o el momento para evaluar otros biomarcadores. Los CMSP también se usan para investigar los efectos de lirilumab y nivolumab en la función de los linfocitos T, según se mide por la expresión de INF $\gamma$  intracelular usando citometría de flujo. Concretamente, se incuban subconjuntos de linfocitos T en placas recubiertas con anti-CD3 para evaluar la activación de linfocitos T en función de la dosis, el

tiempo después de dosis y los niveles en circulación de lirilumab y nivolumab (FC). Entender la relación entre la activación de linfocitos T y diversas combinaciones de dosis de los niveles de lirilumab y nivolumab es importante para establecer una dosificación de fármaco óptima y/o el momento para evaluar otros biomarcadores. Estos estudios se realizan en los primeros seis sujetos en cada cohorte de dosis.

5 Inmunofenotipado de subconjuntos de linfocitos T y linfocitos NK: La proporción relativa de subconjuntos de linfocitos se evalúa a partir de muestras de sangre periférica. Además, los CMSP se usan para caracterizar y cuantificar marcadores específicos de inhibición y activación en subconjuntos de linfocitos NK y linfocitos T mediante citometría de flujo policromática. El inmunofenotipado de linfocitos T reg incluye, pero sin limitación: HLA-DR, CD3, CD4, 10 FoxP3, PD-L1, PD-1, LAG-3, ICOS y CD25. El inmunofenotipado de linfocitos T de memoria/efectores incluye, pero sin limitación: CCR7, CD45RA, CD27, CD28, CD3, CD4, CD8, Ki67, HLA-DR, PD-L1, PD-1, CTLA4 e ICOS. El inmunofenotipado de linfocitos NK incluye, pero sin limitación: CD56, CD3, CD16, CD54, CD94, KIR, NKG2D, NKp30, NKp46, IL-21R, Ki67, CD25 y granzima B.

15 Análisis de modulación inmunitaria de factores solubles: se evalúan los niveles séricos pretratamiento y en tratamiento de quimiocinas, citocinas y otros mediadores inmunitarios por técnicas que incluyen, pero sin limitación, ELISA o ensayos multiplex. Los analitos incluyen marcadores de activación inmunitaria, modulación o inflamación, tales como IFN- $\gamma$ , ligandos NKG2D solubles (es decir, MICA soluble) y sCD25.

20 Expresión de KIR en linfocitos NK: se determina una enumeración absoluta de células que expresan KIR-positivas a partir de muestras de sangre periférica recogidas pretratamiento y en tratamiento. Se usa citometría de flujo para evaluar no solo el porcentaje de células que expresan positivas para KIR (KIR2DL1/2/3) sino también para cuantificar la cantidad de expresión de KIR.

#### 25 13. Evaluaciones para pacientes durante expansión de cohorte

Se obtienen muestras de sangre de todos los sujetos en la expansión de cohorte pretratamiento para aislar ADN para la determinación de los genotipos KIR y HLA. Se usa reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para definir los genotipos que luego se correlacionarán con un resultado clínico después de lirilumab en combinación con 30 nivolumab.

#### 14. Evaluaciones para sujetos sometidos a biopsias de tumor

Se obtiene sangre de todos los sujetos que consienten biopsias de tumor para obtener parejas de tumor/normal. Se 35 obtienen biopsias de tumor pretratamiento y en tratamiento (al final de la semana 16) en un mínimo de diez sujetos en la expansión de cohortes de melanoma. Si por cualquier razón un sujeto no puede someterse a la biopsia en tratamiento, la primera muestra no se incluye como parte del requisito de diez sujetos con muestras pretratamiento y en tratamiento emparejadas. Se les ofrece a los sujetos la oportunidad de someterse a biopsia postratamiento, cuando sea posible. A todos los demás sujetos también se les ofrece la oportunidad de someterse a biopsias de 40 tumor. Se usan muestras tumorales para evaluar poblaciones de linfocitos infiltrantes de tumores específicos (linfocitos NK, linfocitos Treg, CTL) presentes antes de, durante y posiblemente después de la terapia para evaluar el posible mecanismo de acción y como un posible biomarcador de respuesta. La expresión de KIR de linfocitos asociados a tumor también se explora en muestras de ensayo tumorales. Además, se evalúan proteínas expresadas en tumor (es decir, PD-L1 y HLA clase I) por IHQ para determinar posibles asociaciones con respuesta clínica o 45 efectos farmacodinámicos para la combinación de lirilumab y nivolumab. Si hay una cantidad recogida aceptable de tejido, se crioconservan cortes de biopsias de tumor recogidas en pretratamiento y en tratamiento para el posible análisis futuro de expresión génica. Los genes de interés incluyen pero sin limitación a PD-1, PD-L1, KIR y LAG-3. Se requiere la recogida simultánea de muestras de sangre periférica/suero y tejido tumoral (aunque limitadas en 50 número de biopsias de tumor) del mismo sujeto, para ayudar a entender y correlacionar los acontecimientos farmacodinámicos que resultan del bloqueo combinado de KIR y PD-1 e informar sobre posibles mecanismos o resultado clínico.

Un mínimo de 10 sujetos en la cohorte de expansión de melanoma deben tener al menos una lesión lo 55 suficientemente grande como para someterse a biopsias repetidas (biopsias pretratamiento, en tratamiento y posiblemente postratamiento) a través de aguja gruesa (tamaño mínimo de calibre 16) o tener al menos dos lesiones distintas aptas para biopsias de aguja gruesa o por excisión. Estas lesiones no deben ser las únicas lesiones diana o sitios del sujeto que hayan recibido radioterapia anterior. A los sujetos en todas las demás cohortes de expansión se les da la oportunidad de someterse a biopsias si se consideran en riesgo clínico aceptable. La longitud de la aguja gruesa es de más de 5 mm. Se deben tomar al menos dos biopsias con aguja gruesa en cada punto de tiempo; pero 60 la recogida de pociones adicionales se sugiere fuertemente, si el investigador lo considera clínicamente seguro. También son aceptables las biopsias en sacabocados y por excisión. El volumen tumoral mínimo ideal es de 150 mm<sup>3</sup>. Se sugiere fuertemente una confirmación patológica en el momento de la biopsia del tumor para confirmar una recogida de tejido y calidad de biopsia adecuadas. Todas las biopsias recogidas deben tener un informe de patología detallado presentado con la muestra de ensayo. En el momento del inicio del estudio se proporcionan 65 instrucciones detalladas sobre la obtención, procesamiento, etiquetado, manipulación, almacenamiento y transporte de estas muestras de ensayo en un manual de procedimientos separado. A los sujetos cuya biopsia de exploración

produce una cantidad o calidad de tejido inadecuada se les permite continuar en el estudio. Estos sujetos se reemplazan para obtener 10 sujetos con biopsias pretratamiento. Si los sujetos tienen una respuesta al tratamiento, no son posibles biopsias en tratamiento y postratamiento.

#### 5 15. Evaluaciones de inmunogenicidad

Se extraen muestras de suero para el análisis del desarrollo de AAF junto con el análisis de las concentraciones séricas de lirilumab y nivolumab, y se recogen de todos los sujetos predosis en los días 1, 15 y 29 del Ciclo 1, día 29 del Ciclo 2, día 1 del Ciclo 3, fin del tratamiento, y todas las 3 visitas de seguimiento clínico. Estas muestras de suero se analizan para AAF mediante un inmunoensayo validado. Además, se guardan en bancos muestras de lirilumab y nivolumab para el posible análisis de inmunogenicidad exploratorio mediante un método bioanalítico ortogonal (por ejemplo, análisis de inmunocomplejos inmunitarios fármaco-AAF).

#### 15 16. Acontecimientos adversos

Un acontecimiento adverso (AA) se define como cualquier nuevo suceso médico desafortunado o empeoramiento de una afección médica preexistente en un sujeto de investigación clínica a quien se le administró un producto bajo investigación (medicamento) y no necesariamente tiene una relación causal con este tratamiento. Un AA puede, por lo tanto, ser cualquier signo desfavorable y accidental (tal como un hallazgo anómalo de laboratorio), síntoma o enfermedad temporalmente asociada con el uso del producto en investigación, se considere o no relacionado con el producto en investigación.

Un médico determina la relación causal con el fármaco de estudio y debe usarse para evaluar todos los acontecimientos adversos (AA). La relación casual puede ser una de las siguientes:

25 Relacionada: Hay una relación causal razonable entre la administración de fármaco de estudio y el AA.

No relacionada: No hay una relación causal razonable entre la administración del fármaco de estudio y el AA.

30 La expresión "relación causal razonable" significa que hay evidencia que sugiere una relación causal.

Los acontecimientos adversos pueden informarse espontáneamente u obtenidos durante un interrogatorio no pautado, examen o evaluación de un sujeto. (Para evitar sesgos en la presentación de informes, los sujetos no deben interrogarse con respecto a la aparición específica de uno o más AA).

35 Un acontecimiento adverso grave (AAG) es cualquier suceso médico adverso que en cualquier dosis:

- dé como resultado el fallecimiento
- sea peligroso para la vida (definido como un acontecimiento en el cual el sujeto estaba en riesgo de fallecimiento en el momento del acontecimiento; no se refiere a un acontecimiento que hipotéticamente podría haber causado el fallecimiento si hubiera sido más severo)
- requiera hospitalización del paciente o provoque prolongación de la hospitalización existente
- dé como resultado discapacidad/incapacidad persistente o significativa
- sea una anomalía congénita/defecto de nacimiento
- sea un acontecimiento médico importante (definido como un acontecimiento (o acontecimientos) médico que no sea inmediatamente peligroso para la vida o resulte en fallecimiento u hospitalización pero, a base del juicio médico y científico adecuado, ponga en riesgo al sujeto o requiera intervención [por ejemplo, médica, quirúrgica] para prevenir uno de los demás resultados graves enumerados en la definición anterior). Los ejemplos de tales acontecimientos incluyen, pero sin limitación, el tratamiento intensivo en un servicio de urgencias o domiciliario para broncoespasmo alérgico; discrasias hematológicas o convulsiones que no resulten en hospitalización. Un posible daño hepático inducido por fármaco (DHIF) también se considera un acontecimiento médico importante.

La transmisión sospechosa de un agente infeccioso (por ejemplo, patógeno o no patógeno) a través de un fármaco de estudio es un AAG. Aunque el embarazo, la sobredosis, el cáncer y posible el daño hepático inducido por fármaco (DHIF) no siempre son graves por definición normativa, estos acontecimientos se manejan como AAG. Cualquier componente de un criterio valoración del estudio que se considere relacionado con la terapia de estudio (por ejemplo, el fallecimiento es un criterio de valoración, si el fallecimiento se produjo debido a anafilaxis, se informa anafilaxis) debe informarse como AAG.

Las hospitalizaciones posteriores no se consideran AAG:

- una visita al servicio de urgencias u otro servicio de hospital < 24 horas, que no da como resultado admisión (a menos que se considere un acontecimiento médico importante o peligroso para la vida)
- cirugía programada, planeada antes de firmar el consentimiento
- admisiones según protocolo para un procedimiento médico/quirúrgico planeado
- evaluación de salud rutinaria que requiere admisión para valoración inicial/análisis de tendencias del estado de

salud (por ejemplo, colonoscopia de rutina)

- admisión médica/quirúrgica que no sea remediar un estado de salud deficiente y planeada antes de ingresar en el estudio. En estos casos se requiere documentación adecuada
- admisión encontrada para otra circunstancia de vida que no que no tiene relación con el estado de salud y no requiera intervención médica/quirúrgica (por ejemplo, falta de vivienda, insolvencia económica, descanso del cuidador, circunstancias familiares, administrativas).

Después del consentimiento escrito del sujeto para participar en el estudio, se recogen todos los AAG, ya sea relacionados o no relacionados con el fármaco de estudio, incluyendo aquellos que se piense estén asociados con procedimientos específicos de protocolo. Se recogen todos los AAG que se presentan durante el periodo cribado y dentro de los 100 días a partir de la interrupción de la dosificación. Si es aplicable, se recogen los AAG que se refieren a cualquier procedimiento posterior especificado por protocolo (por ejemplo, una biopsia de piel de seguimiento). El investigador debe informar cualquier AAG que se presente después de estos periodos de tiempo y que se considere que esté relacionado con el fármaco de estudio o procedimiento especificado por protocolo. Debe rellenarse un informe de AAG para cualquier acontecimiento en donde exista duda con respecto a su estado o gravedad. Si el investigador cree que un AAG no está relacionado con el fármaco de estudio, pero está potencialmente relacionado con las condiciones del estudio (tales como el retiro de la terapia previa, o una complicación de un procedimiento de estudio), la relación debe especificarse en la sección descriptiva del Formulario de Informe de los AAG). Los AAG, ya sea relacionados o no relacionados con el fármaco de estudio y los embarazos se comunican dentro de las 24 horas.

La recogida de información de AA no graves debe empezar en el inicio del fármaco de estudio. Información de AA no graves también se debe recoger desde el inicio de un periodo de rodaje con placebo u otro periodo de observación destinado a establecer un estado de punto de partida para los sujetos.

Los AA no graves deben seguirse hasta la resolución o estabilización, o informarse como AAG si se vuelven graves. También se requiere seguimiento de los AA no graves que provoquen interrupción o suspensión del fármaco de estudio y para los que estén presentes al final del tratamiento de estudio, según sea adecuado. Todos los AA no graves identificados se registran y describen en la página de AA no graves del CRD (en papel o electrónico). La ejecución de los CRD complementarios se solicita para los AA y/o anomalías de laboratorio que se informen/identifiquen durante el transcurso del estudio.

#### 17. Consideraciones estadísticas

Aumento escalonado de la dosis: Ya que este es un ensayo de aumento escalonado de dosis de Fase I, el tamaño de la muestra en cada dosis no puede determinarse exactamente, dado que depende del número de toxicidades observadas. Se tratan aproximadamente entre 6 y 9 sujetos durante el aumento escalonado de la dosis en cada nivel de dosis, y se dosifican hasta 12 sujetos a niveles de dosis seleccionados. Usando un diseño 6+3 se aseguran 6 sujetos en cada dosis para evaluar una señal sobre los posibles efectos farmacodinámicos de los biomarcadores estudiados.

Expansión de cohorte: durante la expansión de cohorte, se incorporan aproximadamente 16 sujetos en cada uno de los 6 tipos de tumor y se tratan a la DMT, DMA anteriormente determinadas, o a una dosis alternativa. En una cohorte de expansión, si se observan 2 (12,5 %), 3 (18,8 %) o 4 (25 %) respuestas, entonces los límites inferiores de los intervalos de confianza unilaterales del 90 % para la tasa de respuesta objetiva son del 3,4 %, 7,1 % y 11,4 %, respectivamente. Además, se necesitaría observar 4 respuestas en 16 sujetos de forma que el intervalo de confianza del 80 % esté completamente por arriba del 11 % para la tasa de respuesta. Estos cálculos están basados en el método de Clopper-Pearson para intervalos de confianza exactos. Además, si la tasa de respuesta objetiva (TRO) real en una cohorte de tipo de tumor/expansión es del 15 %, entonces con 16 pacientes en cada cohorte hay un 72 % de probabilidad de observar al menos 2 respuestas, y un 44 % de probabilidad de observar al menos 3 respuestas, y hay un 28 % de probabilidad de observar 0 o 1 respuesta (tasa falsa negativa). Si la TRO verdadera en un tipo de tumor es del 5 % en lugar del 15 %, entonces hay un 19 % y un 4 % de probabilidad, respectivamente, de que haya al menos 2 o al menos 3 respuestas en 16 sujetos (tasa falsa positiva).

Poblaciones para análisis:

- Conjunto de datos de todos los inscritos: sujetos que firmaron consentimiento informado firmado y registrados en el estudio.
- Conjunto de datos de todos los tratados: todos los sujetos que recibieron al menos una dosis de cualquier fármaco de estudio.
- Conjunto de datos evaluables por la respuesta: todos los sujetos tratados que reciben cualquier fármaco de estudio, tienen una evaluación de tumor de valoración inicial con enfermedad medible y uno de los siguientes:
  - al menos una evaluación de tumor en tratamiento evaluable,
  - progresión clínica, o
  - fallecimiento antes de la primera evaluación de tumor en tratamiento.

- Conjunto de datos farmacocinéticos de lirilumab: todos los sujetos que reciben al menos una dosis de lirilumab y tienen datos de concentración en suero adecuados para la FC de lirilumab.
- Conjunto de datos farmacocinéticos de nivolumab: todos los sujetos que reciben al menos una dosis de nivolumab y tienen FC de nivolumab adecuada.
- 5 • Conjunto de datos de inmunogenicidad de lirilumab: todos los sujetos que reciben al menos una dosis de lirilumab y tienen al menos una muestra AAF disponible.
- Conjunto de datos de inmunogenicidad de nivolumab: todos los sujetos que reciben al menos una dosis de nivolumab y tienen por lo menos una muestra de AAF disponible.
- 10 • Conjunto de datos de biomarcadores: todos los sujetos tratados que tienen datos de biomarcadores disponibles.

Definiciones de Criterio: La seguridad es el criterio de valoración principal en este estudio Fase I. Todos los sujetos que reciben al menos una dosis de lirilumab o nivolumab se evalúan para seguridad según se mide por la aparición de acontecimientos adversos, acontecimientos adversos graves, fallecimientos y anomalías de laboratorio, evaluados durante el tratamiento y durante 100 días en seguimiento.

El objetivo principal (evaluar la seguridad y tolerabilidad de lirilumab proporcionado en combinación con nivolumab y para identificar toxicidades limitativas de la dosis (las TLD) y la dosis máxima tolerada (DMT) de la combinación) se mide por los siguientes criterios de valoración principales.

- 20 a) Incidencia de acontecimientos adversos: todos los acontecimientos adversos no graves se recogen a partir del día 1 hasta 100 días después de la última dosis del sujeto del fármaco de estudio o hasta que interrumpan el estudio. Todos los acontecimientos adversos graves se recogen a partir de la fecha del consentimiento escrito del sujeto hasta 100 días después de interrumpir la dosificación o hasta que interrumpan el estudio.
- 25 b) Incidencia de anomalías en pruebas de laboratorio clínico, incluyendo hematología y bioquímica sérica, y anomalías en las pruebas tiroideas, evaluadas en puntos de tiempo concretos.

Las evaluaciones son a base de los informes de acontecimientos adversos y los resultados de mediciones de las constantes vitales, electrocardiogramas (ECG), exámenes físicos, estudios por formación de imágenes y pruebas de laboratorio clínico. Los acontecimientos adversos se clasifican usando la versión más actual del Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA); tanto los AA como las pruebas de laboratorio se clasifican usando Criterios Terminológicos Comunes para Acontecimientos Adversos (CTCAE, siglas del inglés *Common Terminology Criteria for Adverse Events*) v4 del Instituto Nacional del Cáncer (NCI, siglas del inglés *National Cancer Institute*). Todos los sujetos que reciben terapia con fármaco de estudio se evalúan para la seguridad según se mide por la tasa de acontecimientos adversos (AA) y acontecimientos adversos graves (AAG), y se evalúan durante el tratamiento y durante 100 días de seguimiento.

El objetivo secundario de evaluar la actividad antitumoral preliminar es a base de criterios de valoración descritos usando irRECIST (Wolchok JD, *et. al.*, Clin Cancer Res 2009; 15:7412-7420) y RECIST v1.1 (Eisenhauer EA, Eur J Cancer 2009; 45:228-247). A efectos del abordaje terapéutico de pacientes, la toma de decisiones clínicas es a base de irRECIST exclusivamente. Por lo tanto, las evaluaciones de la respuesta tumoral en puntos de tiempo se registran en la CRD a base de las evaluaciones de los investigadores usando criterios de irRECIST. El análisis estadístico y los informes están basados en ambos criterios.

La mejor respuesta global (MRG) es la mejor designación de respuesta registrada desde el inicio del tratamiento de estudio hasta el final del tratamiento tomando en cuenta cualquier necesidad de confirmación, con base en criterios RECIST v1.1 o irRECIST. Las determinaciones de RC o RP incluidas en la evaluación MRG se confirman mediante una segunda evaluación (confirmatoria) consecutiva que cumple con los criterios para la respuesta que se realiza al menos 4 semanas después de que se cumplen los criterios para respuesta. Lo anterior se determina a base de mediciones de tumor que se producen cada 8 días durante el periodo de tratamiento (día 1 del Ciclo hasta el día 56 del Ciclo 12), y una vez durante el periodo de Seguimiento Clínico.

Los criterios de valoración del nivel de estudio usado para evaluar este objetivo se definen como sigue:

Tasa de respuesta objetiva (TRO) se define como el número total de sujetos cuya MRG es ya sea RC o RP dividido entre el número total de sujetos en la población de interés.

Duración de la Respuesta (DDR), calculada solo para sujetos con una MRG de CR o PR, se define como el número de días entre la fecha de primera respuesta y la fecha posterior de progresión de la enfermedad documentada objetivamente a base de los criterios (RECIST v1.1 o irRECIST) o fallecimiento, lo que ocurra primero. Para los sujetos que sigan vivos y no hayan progresado o recibido terapia posterior, la duración de la respuesta se censura en la fecha de la última evaluación tumoral. Los sujetos que reciben terapia posterior se censuran al inicio de la terapia posterior.

Tasa de Supervivencia Sin Progresión (TSSP) se define como la probabilidad de que un sujeto se mantenga sin progresión y sobreviva hasta 24 semanas. La probabilidad se calcula a base del número de días entre la primera dosis de fármaco de estudio y enfermedad progresiva o fallecimiento, según se defina por cada criterio. Para los



sujetos que sigan vivos y no hayan progresado, la SSP se censura en la fecha de la última evaluación tumoral. Lo anterior se calcula a base de las mediciones tumorales que se producen cada 8 semanas durante el tratamiento y en puntos de tiempo planeados, durante el periodo de Seguimiento Clínico.

5 Farmacocinética (FC): Concentración máxima de lirilumab  $C_{m\acute{a}x}$ , ( $\mu\text{g/ml}$ ), tiempo hasta la concentración máxima  $T_{m\acute{a}x}$  (h), Área bajo la curva ABCTAU ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ ), Área bajo la curva ABCinf ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ ), Eliminación (L/día), Volumen de distribución (V<sub>ee</sub>), semivida ( $t_{1/2}$ ) y concentración mínima  $C_{m\acute{i}n}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), se evalúan usando análisis no compartimental en todos los sujetos de estudio. Además, las concentraciones de fin de infusión y mínima ( $C_{m\acute{i}n}$ ) de nivolumab se calculan en visita especificada. Inmunogenicidad: La presencia de anticuerpos antifármaco específicos frente a lirilumab y nivolumab se determina a partir de las mediciones en las semanas 1, 3, 5, 13, 17, fin de tratamiento, y en las 3 visitas de seguimiento clínico.

15 Biomarcadores: Mediciones de expresión de los TIL, PD-L1 y HLA clase I usando inmunohistoquímica en biopsias de tumor obligatorias a partir de un mínimo de diez sujetos de expansión de cohorte de melanoma, incluyendo el valor inicial y cambios a partir de resultados del valor inicial.

15 Criterio (o criterios) exploratorio: Los biomarcadores de sangre periférica incluirán medidas de los genotipos de KIR y HLA, ocupación de KIR, ensayos funcionales de linfocitos NK y T, factores solubles, expresión de KIR en linfocitos NK. La supervivencia global (SG) es un criterio de valoración de eficacia exploratorio.

## 20 18. Análisis

Características Demográficas y de la Medida Inicial: Se tabulan las distribuciones de la frecuencia de género y raza. Se recogen resúmenes estadísticos de edad, peso corporal y altura, y se obtiene el Índice de Masa Corporal (IMC).

25 Análisis de Eficacia: La mejor respuesta global individual (MRG), la duración de la respuesta y SSP se enumeran usando criterios RECIST v1.1 e irRECIST. Los resultados de MRG se tabulan por tipo de enfermedad y dosis. La tasa de respuesta objetiva (TRO) y la tasa SSP (por ejemplo, a las 24 semanas), y el intervalo de confianza correspondiente, se proporcionan por tipo de tumor y tratamiento. La duración de la respuesta, la duración de enfermedad estable y la SSP se estiman mediante la metodología de Kaplan-Meier por tipo de enfermedad, dependiendo de la disponibilidad de datos. Las tasas de SSP a las 24 semanas se estiman de forma similar, a base de la metodología K-M. La TRO, la duración de la respuesta y el análisis de la SSP incluirán sujetos en la fase de expansión de cohorte y sujetos en aumento gradual de la dosis que coincidan con los de la expansión de cohorte por tipo de enfermedad y tratamiento. Los cambios individuales en la carga tumoral a lo largo del tiempo se presentan gráficamente dentro de un tipo de enfermedad. La supervivencia global de referencia se evalúa como parte del análisis de la eficacia exploratorio, mediante gráficos de Kaplan-Meier y las medianas para cada tipo de tumor.

35 Análisis de Seguridad: Todos los acontecimientos adversos registrados se enumeran y tabulan por clase de órgano, término preferente y tratamiento. Las constantes vitales y resultados de las pruebas de laboratorio clínico se enumeran y resumen por tratamiento. Cualquier hallazgo significativo del examen físico y los resultados de laboratorio clínico enumeran. Las lecturas de ECG se evalúan por parte del investigador y las anomalías, si están presentes, son enumeran.

45 Análisis de Farmacocinética: Los resúmenes estadísticos se tabulan para los parámetros farmacocinéticos de lirilumab por dosis y día/semana de estudio. Para describir la dependencia de la dosis de anti-KIR, se proporcionan gráficas de dispersión de  $C_{m\acute{a}x}$  y ABC(TAU) frente a la dosis para cada día medido. La proporcionalidad de dosis de lirilumab, cuando se coadministra con nivolumab, se evalúa a base de un modelo de potencia. La concentración de fin de infusión y mínima ( $C_{m\acute{i}n}$ ) de nivolumab se tabulan por resúmenes estadísticos. Estos datos también se agrupan con otros conjuntos de datos para el análisis FC de la población, que son parte de un informe separado.

50 Análisis de biomarcadores: El efecto farmacodinámico de lirilumab sobre los linfocitos infiltrantes de tumor (los TIL) y expresión de marcadores tumorales, incluyendo PD-L1 y HLA clase I, se evalúan por resúmenes estadísticos, y se investigan gráficamente para explorar patrones de cambio, por ejemplo, con exposición al fármaco, para sujetos en la cohorte de expansión de melanoma. Además, la correlación de los cambios de TIL y la expresión de marcadores tumorales con medidas de marcadores en sangre periférica se exploran gráficamente o mediante métodos estadísticos adecuados a base de la disponibilidad de datos, para evaluar asociaciones.

55 Análisis de Biomarcadores Exploratorios: El efecto farmacodinámico de lirilumab en la ocupación de KIR y la combinación de nivolumab proporcionado con lirilumab sobre los marcadores en sangre periférica y las proteínas séricas se evalúan por resúmenes estadísticos y se investigan gráficamente para explorar patrones de cambio a lo largo del tiempo, y cómo los patrones difieren entre niveles de dosis y exposición. Si hay una indicación significativa en el patrón a lo largo del tiempo, se realiza análisis adicional (por ejemplo, por modelo mixto lineal) para caracterizar la relación. Los efectos farmacodinámicos sobre los marcadores de tumor en cohortes que no son melanoma se evalúan de forma similar, dependiendo de la disponibilidad de datos. También se exploran gráficamente las asociaciones entre medidas de biomarcadores de sangre periférica y biopsia de tumor, y resultados clínicos, y se evalúan adicionalmente según sea necesario mediante métodos tales como, pero sin limitación, regresión logística, y se caracterizan mediante estadísticas adecuadas.

- Otros análisis: Se proporciona un listado de todos los datos de inmunogenicidad disponibles. Además, se proporciona un listado de datos de inmunogenicidad de los sujetos con al menos un anticuerpo antifármaco positivo (AAF) en cualquier punto de tiempo por tratamiento para cada analito. Se proporcionan la frecuencia de sujetos con al menos una evaluación de AAF positiva, y la frecuencia de sujetos que desarrollan AAF después de una evaluación de medida inicial negativa. Para examinar la relación potencial entre inmunogenicidad y seguridad, la frecuencia y tipo de los AA de interés especial se examinan mediante estado de inmunogenicidad global. Se exploran las asociaciones entre concentraciones mínimas de lirilumab (o nivolumab) y las evaluaciones de AAF correspondientes.
- 5
- 10 Análisis provisionales: Los datos que emergen de este estudio son necesarios para las decisiones oportunas acerca de los ajustes de los procedimientos en partes posteriores del estudio. Por lo tanto, los datos se revisan antes del cierre final de la base de datos de estudio. Además se realizan análisis provisionales adicionales para fines administrativos o publicaciones. Los análisis solo consisten en listados, resúmenes y gráficas de los datos disponibles. No se realizan inferencias formales que requieran un ajuste al nivel de significación estadística. Los análisis de eficacia a base de datos provisionales usan la respuesta evaluable o todas las poblaciones tratadas dependiendo del fin del análisis.
- 15

**RESUMEN DE SECUENCIAS**

SEQ ID NO:	SECUENCIA
1	<p>Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Pesada Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) (CDR subrayadas)</p> <p>QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS<u>GGTFS</u> <u>FYA</u>ISWVRQA PGQGLEWMGG  <u>FIPIFGAANY</u> AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSDD TAVYYCAR<u>IP</u>  <u>SGSYYYDYDM</u> <u>DV</u>WGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC  LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG  TKTYTCNVDH KPSNTKVDKR VESKYGPPCP <u>PC</u>PAPEFLGG PSVFLFPPKP  KDTLMISRTP EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN  STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS KAKGQPREPQ  VYTLPPSQEE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV  LSDSGSFFLY SRLTVDKSRW QEGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSLGK</p>
2	<p>Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Ligera Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) (CDR subrayadas)</p> <p>EIVLTQSPVT LSLSPGERAT LSCRAS<u>QSVS</u> <u>SY</u>LAWYQQKP GQAPRLLIYD  <u>ASN</u>RATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYC<u>QQ</u> <u>RSNWMYTFGQ</u>  GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV  DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG  LSSPVTKSFN RGEN</p>
3	<p>Secuencia de Aminoácidos de la Región Variable de la Cadena Pesada (VH) Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (SEQ ID NO:17 del documento WO 2006/003179)</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCCKASGGTFSFYAISWVRQAPGQGLEWMGGFIPIF  GAANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSDDTAVYYCARIPSGSYYYDYDMD  VWGQGTITVSS</p>

ES 2 643 887 T3

4	<p>Secuencia de Nucleótidos de la Región Variable de la Cadena Pesada (VH)  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (SEQ ID NO:18 del documento WO 2006/003179)  cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc  ggtgaaggtc tcctgcaagg cttctggagg caccttcagt ttctatgcta  tcagctgggt gcgacaggcc cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg  ttcatccta tctttggtgc agcaaactac gcacagaagt tccagggcag  agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac atggaactga  gcagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaatccct  agtgggagct actactacga ctacgatatg gacgtctggg gcccaaggac  cacggtcacc gtctcctca</p>
5	<p>Secuencia de Aminoácidos de la Región Variable de la Cadena Ligera (VL)  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (SEQ ID NO:15 del documento WO 2006/003179)  EIVLTQSPVTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD  ASNRATGIPARFSGSGSGTDFLTITISLEPEDFAVYYCQQRSNWMYTFGQ  GTKLEIKRT</p>
6	<p>Secuencia de Nucleótidos de la Región Variable de la Cadena Ligera (VL)  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (SEQ ID NO:16 del documento WO 2006/003179)  gaaattgtgt tgacacagtc tccagtcacc ctgtctttgt ctccagggga  aagagccacc ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag  cctggtacca acagaaacct ggccaggctc ccaggctcct catctatgat  gcaccaaca gggccactgg catccagcc aggttcagtg gcagtgggtc  tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct gaagattttg  cagtttatta ttgtcagcag cgtagcaact ggatgtacac ttttggccag  gggaccaagc tggagatcaa acgaact</p>
7	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR1 de la Cadena Pesada  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (de la Figura 15 del documento WO 2006/003179)  (corresponde a los restos de aminoácido 31-35 de SEQ ID NO: 1)  FYAIS</p>
8	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR2 de la Cadena Pesada  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (de la Figura 15 del documento WO 2006/003179)  (corresponde a los restos de aminoácido 50-65 de SEQ ID NO: 1)  GFIPIFGAANYAQKFQ</p>
9	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR3 de la Cadena Pesada  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (de la Figura 15 del documento WO 2006/003179)  (corresponde a los restos de aminoácido 99-112 de SEQ ID NO: 1)  IPSGSYYYDYDMDV</p>
10	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR1 de la Cadena Ligera  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (de la Figura 15 del documento WO 2006/003179)  (corresponde a los restos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO: 3)  RASQSVSSYLA</p>
11	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR2 de la Cadena Ligera  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (de la Figura 15 del documento WO 2006/003179)  (corresponde a residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO: 3)  DASNRAT</p>
12	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR3 de la Cadena Ligera  Acm Anti-KIR (IPH2102 / lirilumab) - (de la Figura 15 del documento WO 2006/003179)  (corresponde a los restos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO: 3)  QQRSNWMYTFGQ</p>

13	<p>Dominio Extracelular de KIR2DL1 (SEQ ID NO: 23 del documento WO 2006/003179) HEGVHRKPSLLAHPGXLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLHREGMFNDT LRLIGEHHHDGVSKANFSISRMTQDLAGTYRCYGSVTHSPYQVSAPSDPLD IVIIGLYEKPSLSAQXGPTVLAGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHER RLPAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFHDSPLYEWSKSSDPLLVS VTGNPSNSWPSPTEPSKKTGNPRHLH</p>
14	<p>Dominio Extracelular de KIR2DL2 (SEQ ID NO:24 del documento WO 2006/003179) HEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVRFHFLLHREGKFKDTLH LIGEHHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIV ITGLYEKPSLSAQPGPTVLAGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHECRF SAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSNSDPLLVSVI GNPSNSWPSPTEPSKKTGNPRHLH</p>
15	<p>Dominio Extracelular de KIR2DL3 (SEQ ID NO:25 del documento WO 2006/003179) HEGVHRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQCWSDVRFQHFLLHREGKFKDTLH LIGEHHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIV ITGLYEKPSLSAQPGPTVLAGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRF SAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSNSDPLLVSVT GNPSNSWPSPTEPSSETGNPRHLH</p>
16	<p>Dominio Extracelular de KIR2DS4 (SEQ ID NO:38 del documento WO 2006/003179) QEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLHREGKFNNTLH LIGEHHHDGVSKANFSIGPMPVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMV</p>
17	<p>Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Pesada Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168) (región variable subrayada; región constante en negritas) <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGL</u> <u>EWVAVIWYDGSKRYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCATNDDYWGQGLTVTVSS</u><b>ASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAA</b> <b>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT</b> <b>VPSSSLGTKTYTCNV DHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG</b></p>
	<p><b>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV</b> <b>EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL</b> <b>LPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS</b> <b>DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV</b> <b>FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK</b></p>
18	<p>Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Ligera Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168) (región variable subrayada; región constante en negritas) <u>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI</u> <u>YDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQSSNWPR</u> <u>TFGQGTKVEIK</u><b>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA</b> <b>KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK</b> <b>VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</b></p>

19	<p>Secuencia de Aminoácidos de la Región Variable de la Cadena Pesada (VH)  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168)  (SEQ ID NO:4 del documento WO 2006/121168)  QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAV  IWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLR AEDTAVYYCATND  DYWGQGT LVTVSS</p>
20	<p>Secuencia de Nucleótidos de la Región Variable de la Cadena Pesada (VH)  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168)  (SEQ ID NO:60 del documento WO 2006/121168)  cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct  ggg agg tcc ctg aga ctc gac tgt aaa gcg tct gga atc acc  ttc agt aac tct ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc  aag ggg ctg gag tgg gtg gca gtt att tgg tat gat gga agt  aaa aga tac tat gca gac tcc gtg aag ggc cga ttc acc atc  tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg ttt ctg caa atg aac  agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gcg aca  aac gac gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc  tca</p>
21	<p>Secuencia de Aminoácidos de la Región Variable de la Cadena Ligera (VL)  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168)  (SEQ ID NO:11 del documento WO 2006/121168)  EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD  ASNRATGIPARFSGSGSGTDFLT ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQ  GTKVEIK</p>
22	<p>Secuencia de Nucleótidos de la Región Variable de la Cadena Ligera (VL)  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168)  (SEQ ID NO: 67 del documento WO 2006/121168)  gaa att gtg ttg aca cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct  cca ggg gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt  ggt agt agt tac tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag  gct ccc agg ctc ctc atc tat gat gca tcc aac agg gcc act  ggc atc cca gcc agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac  ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct gaa gat ttt gca  ggt tat tac tgt cag cag agt agc aac tgg cct cgg acg ttc  ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa</p>
23	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR1 de la Cadena Pesada  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168)  (SEQ ID NO:18 de WO 2006/121168)  NSGMH</p>
24	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR2 de la Cadena Pesada  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento 2006/121168)  (SEQ ID NO: 25 del documento WO 2006/121168)  VIWYDGSKRYYADSVKG</p>
25	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR3 de la Cadena Pesada  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168)  (SEQ ID NO:32 del documento WO 2006/121168)  NDDY</p>
26	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR1 de la Cadena Ligera  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en WO el documento 2006/121168)  (SEQ ID NO: 39 del documento WO 2006/121168)  RASQSVSSYLA</p>

27	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR2 de la Cadena Ligera  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168)  (SEQ ID NO:46 del documento WO 2006/121168)  DASNRAT</p>
28	<p>Secuencia de Aminoácidos de la CDR3 de la Cadena Ligera  Acm Anti-PD-1 (BMS936558; 5C4 en el documento WO 2006/121168)  (SEQ ID NO:53 del documento WO 2006/121168)  QQSSNWPRT</p>
29	<p>Secuencia de PD-1 completa (N.º de Referencia de GenBank: U64863)  agtttccctt ccgctcacct ccgcctgagc agtggagaag gcggcactct  ggtggggctg ctccaggcat gcagatccca caggcgccct ggccagtcgt  ctgggcggtg ctacaactgg gctggcggcc aggatggttc ttagactccc  cagacaggcc ctggaacccc cccaccttet tcccagccct gctcgtggtg</p>
	<p>accgaagggg acaacgccac cttcacctgc agcttctcca acacatcgga  gagcttcgtg ctaaactggt accgcatgag ccccagcaac cagacggaca  agctggccgc cttccccgag gaccgcagcc agcccggcca ggactgccgc  ttcctgtgca cacaactgcc caacgggctg gacttccaca tgagcgtggt  cagggcccgg cgcaatgaca gcggcaccta cctctgtggg gccatctccc  tggcccccaa ggcgcagatc aaagagagcc tgcgggcaga gctcagggtg  acagagagaa gggcagaagt gccacagcc caccccagcc cctcaccag  gccagccggc cagttccaaa cctggtggt tgggtgctgt ggcgccctgc  tgggcagcct ggtgctgcta gtctgggtcc tggccgtcat ctgctcccgg  gccgcacgag ggacaatagg agccaggcgc accggccagc ccctgaagga  ggaccctca gccgtgctg tgttctctgt ggactatggg gagctggatt  tccagtggcg agagaagacc ccggagcccc ccgtgccctg tgtccctgag  cagacggagt atgccaccat tgtctttcct agcggaatgg gcacctcctc  ccccgccgc aggggctcag ccgacggccc tccgagtgcc cagccactga  ggcctgagga tggacactgc tcttggcccc tctgaccggc ttccttggcc  accagtgttc tgcagaccct ccaccatgag cccgggtcag cgcatttctc  caggagaagc aggcagggtg caggccattg caggccgtcc aggggctgag  ctgcctgggg gcgaccgggg ctccagcctg cacctgcacc aggcacagcc  ccaccacagg actcatgtct caatgccac agtgagcca ggcagcaggt  gtcaccgtcc cctacagga gggccagatg cagtactgc ttcaggctct  gccagcacag agetgcctgc gtccagctcc ctgaatctct gctgctgctg  ctgctgctgc tgctgctgce tgcggccccg ggctgaaggc gccgtggccc  tgctgacgc cccggagcct cctgcctgaa cttgggggct ggttgagat  ggccttgag cagccaaggt gccctggca gtggcatccc gaaacgccct  ggacgcaggg cccaagactg ggcacaggag tgggaggtac atggggctgg  ggactccca ggagttatct gctccctgca ggcctagaga agtttcaggg  aaggtcagaa gagctcctgg ctgtggtggg cagggcagga aaccctccc  acctttacac atgccagge agcacctcag gccctttgtg gggcagggaa  gctgaggcag taagcgggca ggcagagctg gaggcctttc aggccagcca  gcaactctggc ctctgcccgc cgcattccac cccagcccct cacaccactc  gggagagggg catcctacgg tcccaaggtc aggagggcag ggctggggtt  gactcaggcc cctcccagct gtggccacct ggggtgtggg agggcagaag  tgcaggcacc tagggcccc catgtgcca cctgggagc tctccttggg  accatttct gaaattattt aaaggggttg gccgggctcc caccagggcc  tgggtgggaa ggtacaggcg tcccccggg gcctagtacc cccgcgtggc  ctatccactc ctcacatcca cactgcac cccactcct ggggcagggc  caccagcctc caggcggcca gcaggacct gagtggctgg gacaagggat  ccccctccc tgtggttcta ttatattata attataatta aatatgagag  catgct</p>

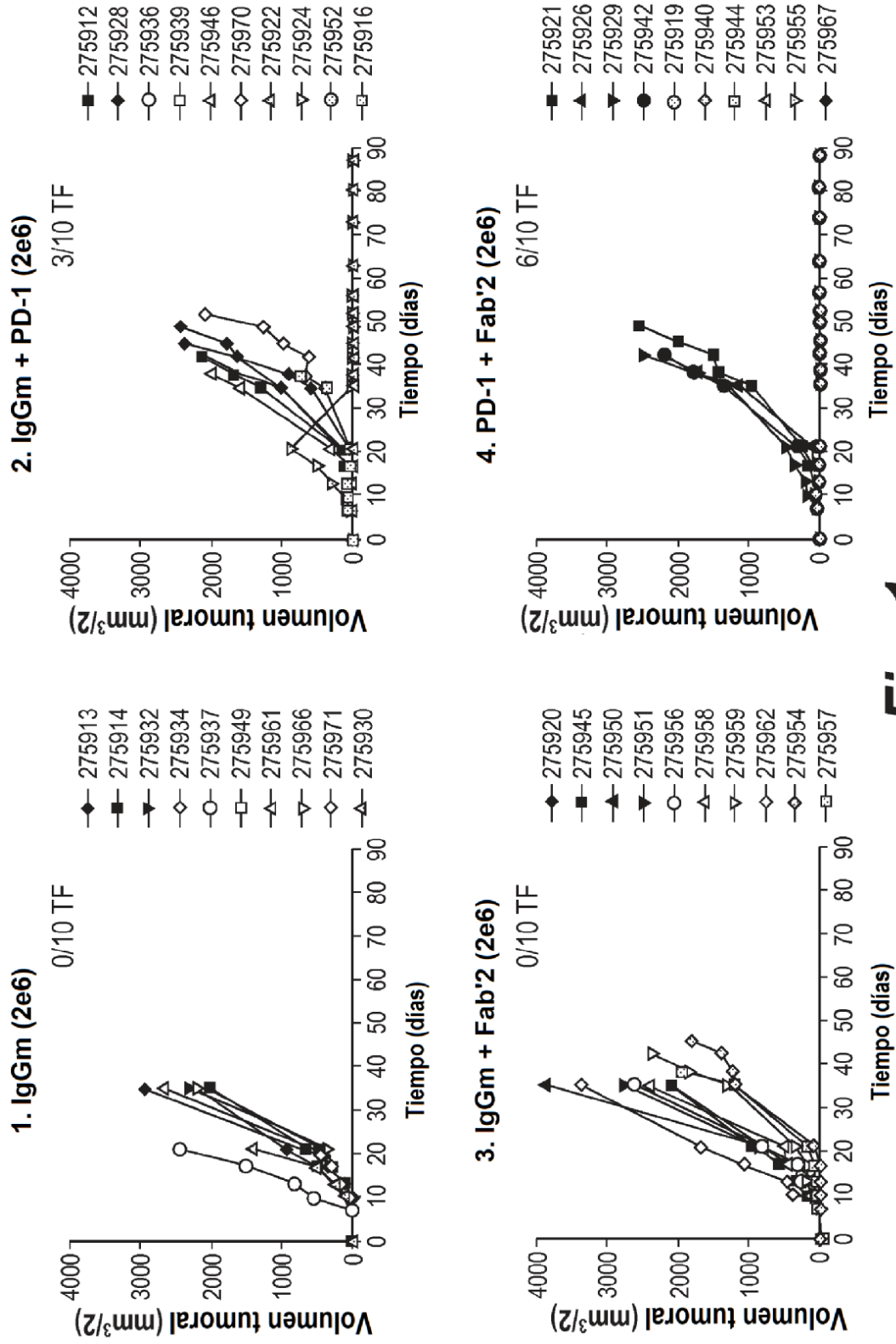
## REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-KIR que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5, y un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 21, para su uso en un método para el tratamiento del cáncer en un paciente humano, en donde el método comprende al menos un ciclo de administración, en el que el ciclo es un período de ocho semanas, en el que para cada uno de los al menos un ciclo, se administran dos dosis del anticuerpo anti-KIR a una dosis de 0,1, 0,3, 1, 3, 6 o 10 mg/kg y se administran cuatro dosis del anticuerpo anti-PD-1 a una dosis de 3 mg/kg.
2. Los anticuerpos para el uso de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 son para administrarse en las siguientes dosis:
- (a) 0,1 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;
  - (b) 0,3 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;
  - (c) 1 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;
  - (d) 3 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1;
  - (e) 6 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1; o
  - (f) 10 mg/kg de anticuerpo anti-KIR y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1.
3. Los anticuerpos para el uso de las reivindicaciones 1 o 2, en las que los anticuerpos anti-PD-1 y anti-KIR se formulan para administración intravenosa.
4. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en las que el tratamiento consiste en hasta 12 ciclos.
5. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en las que el anticuerpo anti-PD-1 es para administrarse en los días 1, 15, 29 y 43 de cada ciclo.
6. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en las que el anticuerpo anti-KIR es para administrarse en los días 1 y 29 de cada ciclo; opcionalmente
- (a) en las que el anticuerpo anti-PD-1 es para administrarse antes de la administración del anticuerpo anti-KIR en los días 1 y 29, o
  - (b) en las que el anticuerpo anti-PD-1 es para administrarse antes de la administración del anticuerpo anti-KIR en los días 1 y 29, y el anticuerpo anti-KIR es para administrarse dentro de los 30 minutos después del anticuerpo anti-PD-1.
7. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en las que el tratamiento produce al menos un efecto terapéutico elegido entre reducción del tamaño de un tumor, reducción del número de lesiones metastásicas a lo largo del tiempo, respuesta completa, respuesta parcial y enfermedad estable.
8. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en las que el cáncer es un tumor sólido, o en particular un tumor sólido resistente avanzado y se elige opcionalmente de cáncer de cabeza o cuello, cáncer pulmonar no microcítico (CPNM), carcinoma de células renales (CCR), melanoma, cáncer colorrectal y carcinoma ovárico seroso.
9. Los anticuerpos para el uso de la reivindicación 8, en la que el cáncer es cáncer de cabeza o cuello.
10. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en las que el cáncer es una neoplasia maligna hematológica y se elige opcionalmente de mieloma múltiple, linfoma de Hodgkin, linfoma folicular, linfoma de linfocitos B grandes difuso y linfoma de linfocitos T.
11. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en las que el anticuerpo anti-KIR comprende
- (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 7,
  - (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 8,
  - (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 9,
  - (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 10,
  - (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 11, y
  - (f) una CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 12; y/o

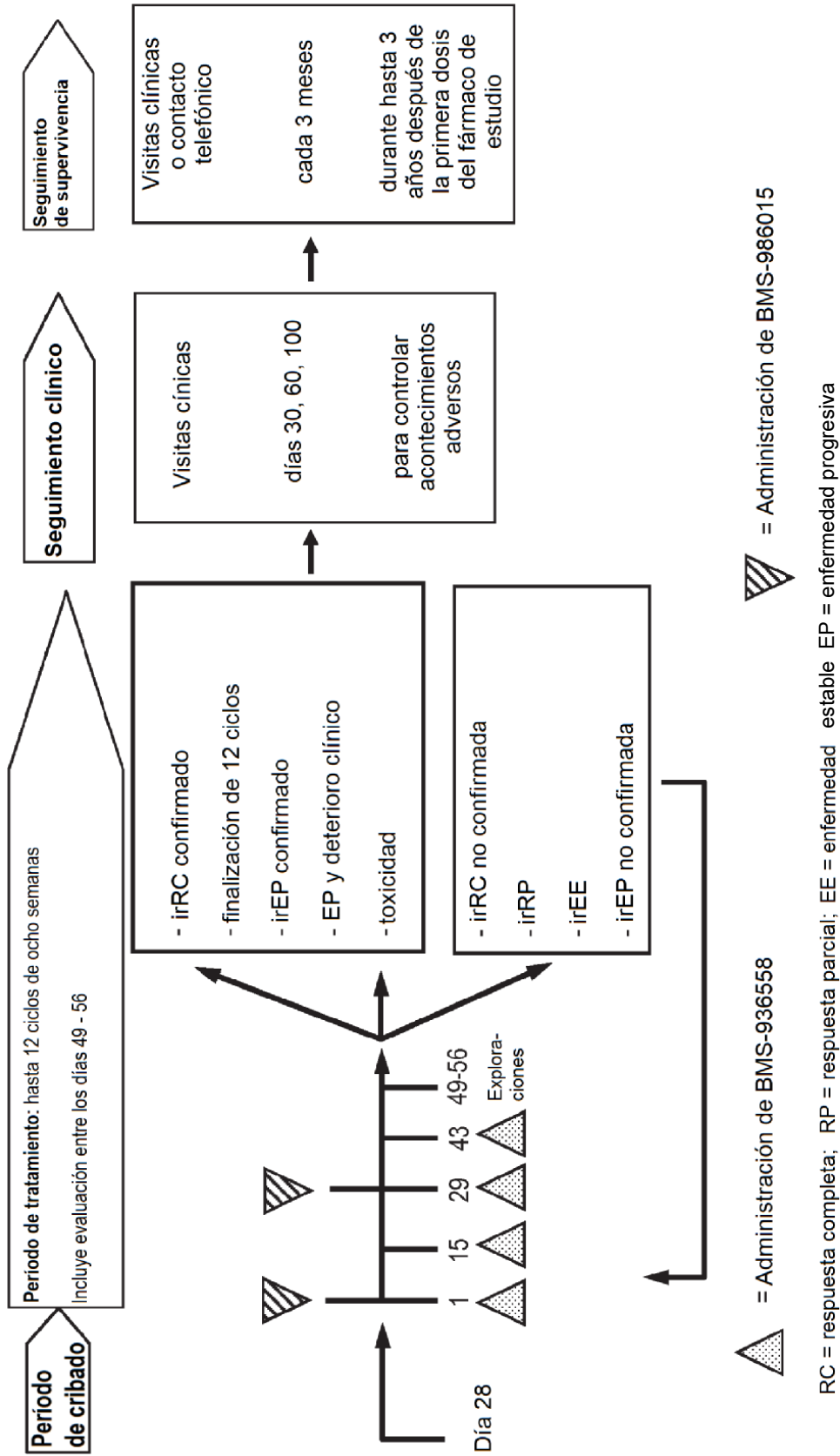
en las que el anticuerpo anti-PD-1 comprende

- 5 (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 23,  
 (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 24,  
 (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 25,  
 (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 26,  
 (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 27, y  
 (f) una CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 28.
- 10 12. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en las que el anticuerpo anti-KIR  
 comprende regiones variables de las cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID  
 NO: 3 y 5, respectivamente; y/o  
 en las que el anticuerpo anti-PD-1 comprende regiones variables de las cadenas pesada y ligera que tienen las  
 secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 19 y 21, respectivamente.
- 15 13. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en las que el anticuerpo anti-KIR  
 comprende cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 1 y 2,  
 respectivamente; y/o  
 en las que el anticuerpo anti-PD-1 comprende cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias expuestas en las  
 20 SEQ ID NO: 17 y 18, respectivamente.
14. Los anticuerpos para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en las que:
- 25 (a) el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 son para administrarse de forma simultánea en una  
 formulación única; o  
 (b) el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 se formulan para la administración separada; o  
 (c) el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 son para administrarse al mismo tiempo; o  
 (d) el anticuerpo anti-KIR y el anticuerpo anti-PD-1 son para administrarse de forma secuencial; o  
 30 (e) el anticuerpo anti-PD-1 es para administrarse en primer lugar seguido de la administración del anticuerpo anti-  
 KIR; o  
 (f) el anticuerpo anti-KIR es para administrarse en primer lugar seguido de la administración del anticuerpo anti-  
 PD-1.
- 35 15. Un kit para su uso en un método para el tratamiento del cáncer en un paciente humano, comprendiendo el kit:
- (a) una dosis de un anticuerpo anti-KIR que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región  
 variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y  
 CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5;  
 40 (b) una dosis de un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región  
 variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y  
 CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 21; y  
 (c) instrucciones para el uso del anticuerpo anti-KIR y del anticuerpo anti-PD-1 de acuerdo con una cualquiera de  
 las reivindicaciones 1-14.
- 45 16. Un anticuerpo anti-KIR que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena  
 pesada que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región  
 variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5, para su uso en el tratamiento de un  
 sujeto, en donde el anticuerpo anti-KIR es para coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los  
 dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en  
 50 SEQ ID NO: 19, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la  
 secuencia expuesta en SEQ ID NO: 21, en al menos un ciclo, en donde para cada ciclo se administran dos dosis del  
 anticuerpo anti-KIR a una dosis de 0,1, 0,3, 1, 3, 6 o 10 mg/kg y se administran cuatro dosis del anticuerpo anti-PD-1  
 a una dosis de 3 mg/kg.





**Fig. 1**



**Fig. 2**