

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 022**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.03.2014 PCT/US2014/024208**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014 WO14159562**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2014 E 14717294 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017 EP 2970473**

54 Título: **Combinación de un agonista de DR5 y un antagonista de anti-PD-1 y métodos de uso**

30 Prioridad:

**14.03.2013 US 201361783184 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:

**BARNHART, BRYAN y  
JURE-KUNKEL, MARIA, N.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 644 022 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 un agonista de DR5 y un antagonista de anti-PD-1 y métodos de uso

5 **Referencia a solicitudes relacionadas**

Esta solicitud reivindica prioridad y beneficio sobre la solicitud de patente provisional de Estados Unidos número 61/783.184, presentada el 14 de marzo de 2013.

10 **Listado de secuencias**

La presente solicitud contiene una lista de secuencias que se ha presentado electrónicamente en formato ASCII. Dicha copia ASCII, creada el 3 de marzo de 2014, se denomina MXI-529PC\_SL.txt y tiene un tamaño de 24.778 bytes.

15

**Antecedentes**

El National Cancer Institute ha estimado que solo en Estados Unidos, 1 de cada 3 personas se verá afectado con cáncer durante su vida. Además, aproximadamente del 50 % al 60 % de las personas que contraen cáncer terminarán sucumbiendo a la enfermedad. La presencia generalizada de esta enfermedad subraya la necesidad de mejorar los regímenes antineoplásicos para el tratamiento de las neoplasias malignas.

20

La muerte celular programada 1 (PD-1) es un receptor de señalización de la superficie celular que desempeña un papel crucial en la regulación de la activación de las células T y la tolerancia (Keir ME, et al., Annu Rev Immunol 2008; 26:677-704). Es un tipo I proteína transmembrana y, junto con BTLA, CTLA-4, ICOS y CD28, comprenden la familia CD28 de receptores coestimuladores de células T. PD-1 se expresa principalmente en células T, células B y células mieloides activadas (Dong H, et al., Nat Med 1999; 5:1365-1369). También se expresa en las células asesinas naturales (NK) (Terme M, et al., Cancer Res 2011; 71:5393-5399). PD-1 se expresa a niveles mu altos en los linfocitos infiltrantes de tumores y sus ligandos están regulados por aumento en la superficie celular de muchos tumores diferentes (Dong H, et al., Nat Med 2002; 8:793-800). Múltiples modelos de cáncer murino han demostrado que la unión del ligando a PD-1 da como resultado la evasión inmunitaria. Además, el bloqueo de esta interacción da como resultado actividad anti-tumoral.

25

30

Se han identificado dos ligandos de glicoproteína de la superficie celular para PD-1, PD-L1 y PD-L2, y se ha demostrado que regulan por disminución la activación de células T y la secreción de citocinas tras 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; Ohigashi et al. (2005) Clin Cancer Res 11:2947-53). Tanto PD-L1 (B7-H1) como PD-L2 (B7-DC) son homólogos de B7 que se unen a PD-1, pero no se unen a otros miembros de la familia de CD28 (Blank et al. (2004). La expresión de PD-L1 en la superficie celular también se ha demostrado que está regulada por aumento mediante la estimulación de IFN-gamma.

35

40

Se ha descubierto expresión de PD-L1 en varios cánceres murinos y humanos, incluyendo de pulmón humano, carcinoma de ovarios y de colon y varios mielomas (Iwai et al. (2002) PNAS 99:12293-7; Ohigashi et al. (2005) Clin Cancer Res 11:2947-53). Se ha sugerido que PD-L1 desempeña un papel en la inmunidad tumoral aumentando la apoptosis de clones células T específicas de antígeno (Dong et al. (2002) Nat Med 8:793-800). También se ha sugerido que PD-L1 podría estar implicado en la inflamación de la mucosa intestinal y la inhibición de PD-L1 suprime la enfermedad de emaciación asociada con la colitis (Kanai et al. (2003) J Immunol 171:4156-63).

45

TRAIL (el ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TNF)) es un miembro de la superfamilia de los TNF con la capacidad de inducir apoptosis de las células tumorales. Se han identificado al menos cinco receptores para TRAIL. DR4 (TRAIL-R1) y DR5 (TRAIL-R2) son receptores inductores de la apoptosis, que contienen cada uno un dominio de muerte intracelular (véase, por ejemplo, Pan G, et al., Science. 1997;276:111-113, Pan G, et al., Science. 1997;277:815-818, Sheridan JP, et al., Science. 1997;277:818-821, y Walczak H, et al., EMBO J. 1997;16:5386-5397). Tras la activación del receptor, DR4 y DR5 reclutan la proteína asociada a FAS con un dominio de muerte (FADD) y la caspasa-8 para formar el complejo de señalización inductor de muerte (DISC), que activa la caspasa-8, que posteriormente conduce a la activación de las caspasas ejecutoras, tal como la caspasa-3, que inducen la apoptosis (véase, por ejemplo, Kischkel FC, et al., Immunity. 2000;12:611-620, Thomas LR, et al., J Biol Chem. 2004;279:32780-32785, Thomas LR, et al., J Biol Chem. 2004;279:52479-52486, Varfolomeev E, et al., J Biol Chem. 2005;280:40599-40608, Ashkenazi A., Nat Rev Cancer. 2002;2:420-430 y Thorburn A. Cell Signal. 2004, 16, 139-144).

50

55

TRAIL y los anticuerpos agonistas que reconocen los receptores de TRAIL preferentemente matan las células tumorales e inducen una actividad anti-tumoral potente en diversos modelos experimentales (véase, Griffith TS, et al., Curr Opin Immunol. 1998;10:559-563, Ashkenazi A, et al., J Clin Invest. 1999;104:155-162, Walczak H, et al., Nat Med. 1999;5:157-163, Chuntharapai A, et al., J Immunol. 2001;166:4891-4898 y Ichikawa K, et al., Nat Med. 2001, 7, 954-960). La administración de TRAIL a ratones portadores e tumores humanos suprimió de forma activa la

60

progresión tumoral y mejoró de la supervivencia del animal (Walczak H, et al, Nat Med. 1999, 5, 157-163). Por consiguiente, los agonistas contra DR4 o DR5 mediante la activación de la apoptosis son cada vez más importantes como candidatos para el tratamiento del cáncer.

- 5 Una terapia de combinación antitumoral que comprende un anticuerpo monoclonal anti-DR5 inductor de muerte de células tumorales (mAb) y los mAb inmunes activadores anti-CD40 y anti-CD 137 se describe en Takeda et al. (J Immunol 184(10):5493-5501, 2010) y Uno et al. (Nature Medicine 12(6):693-698, 2006).

### Sumario de la invención

- 10 Los presentes inventores han descubierto por primera vez que la administración conjunta de un agonista de DR5 (por ejemplo, un anticuerpo) y un antagonista anti-PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo) inhibe eficazmente el crecimiento tumoral *in vivo*, incluso sinérgicamente. Por consiguiente, es un objetivo de la presente invención proporcionar métodos mejorados para tratar a sujetos con cáncer. Específicamente, es un objetivo de la invención  
15 proporcionar regímenes de tratamiento de combinación eficaces, en los que se combina un agonista de DR5 con un antagonista anti-PD-1 para el tratamiento de cáncer.

- La presente invención proporciona un antagonista de PD-1 y/o un agonista de DR5 para su uso en un método para el tratamiento de cáncer en un sujeto, en el que los métodos comprenden coadministrar una cantidad eficaz del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5. El agonista DE DR5 se acopla al receptor de DR5 y es un agente que induce la apoptosis en las células cancerosas.  
20

- Los agonistas anti-DR5 para su uso en los métodos de tratamiento de cáncer descritos en el presente documento son anticuerpos anti-DR5 (por ejemplo, anticuerpos monoclonales y anticuerpos biespecíficos). En una realización, el agonista de DR5 es un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en lexatumumab (también conocido como ETR2-ST01), tigatuzumab (también conocido como CS-1008), conatumumab (también conocido como AMG 655), drozitumab, HGSTR2J/KMTRS y LBY-135. En otra realización, el agonista de DR5 es, por ejemplo, TAS266. Además, en el presente documento se describen ligandos agonistas de DR5 (por ejemplo, un ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF (TRAIL), por ejemplo dulanermin (también conocido como AMG951).  
25  
30

- Los antagonistas de PD-1 para su uso en los métodos de tratamiento de cáncer descritos en el presente documento son anticuerpos anti-PD-1 (por ejemplo, anticuerpos monoclonales y anticuerpos biespecíficos). En una realización, el antagonista PD-1 es un anticuerpo, tal como MK-3475 o CT-011.

- 35 Un anticuerpo anti-PD-1 de ejemplo es 5C4 (denominado 5C4 en el documento WO 2006/121168; también conocido como MDX-1106, ONO-4538 y Nivolumab) que comprende cadenas pesadas y ligeras que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente, o fragmentos de unión a antígeno y variantes de los mismos. En otras realizaciones, el anticuerpo comprende las CDR o VR de las cadenas pesada y ligera de 5C4. Por consiguiente, en una realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH de 5C4 que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 13, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL de 5C4 que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 15. En otra realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada que tienen las secuencias establecidas en las SEQ ID NO: 17, 18, y 19, respectivamente y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera que tienen las secuencias establecidas en las SEQ ID NO: 20, 21, y 22, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende las regiones VH y/o VL que tienen las secuencias de aminoácido expuestas en la SEQ ID NO: 13 y/o la SEQ ID NO: 15, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende las regiones variables de cadena pesada (VH) y/o de cadena ligera (VL) codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en la SEQ ID NO: 14 y/o la SEQ ID NO: 16, 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 una identidad de secuencia de aminoácidos de la región variable de al menos aproximadamente un 90 % con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, una identidad de la región variable de al menos un 90 %, 95 % o 99 % con la SEQ ID NO: 13 o la SEQ ID NO: 15).  
40  
45  
50

- Además, en el presente documento se describe un antagonista de PD-1 que es un anticuerpo anti-PD-L1, tal como MEDI4736 (también conocido como anti-B7-H1) o MPDL3280A (también conocido como RG7446). Un anticuerpo anti-PD-L1 de ejemplo es 12A4 (denominado 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743). El anticuerpo comprende las CDR o VR de las cadenas pesada y ligera de 12A4. El anticuerpo puede comprender los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH de 12A4 que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL de 5C4 que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 3. El anticuerpo puede comprender los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada que tienen las secuencias establecidas en las SEQ ID NO: 5, 6 y 7, respectivamente y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera que tienen las secuencias establecidas en las SEQ ID NO: 8, 9 y 10, respectivamente. El anticuerpo puede comprender las regiones VH y/o VL que tienen las secuencias de aminoácido expuestas en la SEQ ID NO: 1 y/o la SEQ ID NO: 3, respectivamente. El anticuerpo puede comprender las regiones variables de cadena pesada (VH) y/o de cadena ligera (VL) codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en la SEQ ID NO: 2 y/o la SEQ ID NO: 4, respectivamente. El anticuerpo puede competir por la unión con  
55  
60  
65

y/o se une al mismo epítipo en PD-L1 que los anticuerpos mencionados anteriormente. El anticuerpo puede tener una identidad de secuencia de aminoácidos de la región variable de al menos aproximadamente un 90 % con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, una identidad de la región variable de al menos un 90 %, 95 % o 99 % con la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 3).

5 En una realización, la invención proporciona un antagonista de PD-1 y/o un agonista de DR5 para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5, en el que

- 10 (a) el antagonista de PD-1 es 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 la SEQ ID NO: 13 y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 15;
- 15 y  
(b) el agonista de DR5 es un anticuerpo.

En otra realización, la invención proporciona un antagonista de PD-1 y/o un agonista de DR5 para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5, en el que

- 20 (a) el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-L1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 1 y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 3; y
- 25 (b) el agonista de DR5 es un anticuerpo.

La eficacia de los métodos de tratamiento proporcionados en el presente documento puede evaluarse utilizando 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 completa, respuesta parcial y enfermedad estable. En otra realización, la administración de un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5 da por resultado una reducción de al menos 1, 1,25, 1,50, 1,75, 2, 2,25, 2,50, 2,75, 3, 3,25, 3,5, 3,75 o 4 veces el volumen del tumor, por ejemplo, en relación con el tratamiento con el antagonista de PD-1 o el agonista de DR5 solo, o con respecto al volumen del tumor antes del inicio del tratamiento. En otra realización, la administración de un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5 da por resultado una reducción de al menos 1, 2 o, más preferentemente, 3 veces el volumen del tumor, por ejemplo, en relación con el tratamiento con el antagonista de PD-1 o el agonista de DR5 solo, o con respecto al volumen del tumor antes del inicio del tratamiento. En una realización adicional, la administración de un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5 da por resultado una inhibición del crecimiento tumoral de al menos un 50 %, 60 %, 70 % u 80 %, por ejemplo, en relación con el tratamiento con el antagonista de PD-1 o el agonista de DR5 solo, o con respecto al volumen del tumor antes del inicio del tratamiento. En determinadas realizaciones, el volumen tumoral se reduce en un 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, un 90 % o más, por ejemplo, con respecto al tamaño del tumor antes del inicio del tratamiento.

El antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 se pueden administrar de acuerdo con una dosis adecuada, vía (por ejemplo, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intratecal o subcutánea). El antagonista y el agonista también se pueden administrar de acuerdo con cualquier programa adecuado. Por ejemplo, el antagonista y el agonista se pueden administrar simultáneamente en una sola formulación. De manera alternativa, el antagonista y el agonista se pueden formular para administración separada, en el que se administran de forma concurrente o secuencial. En una realización, el antagonista de PD-1 se administra antes de la administración del agonista de DR5. En otra realización, el agonista de DR5 se administra antes de la administración del antagonista de PD-1. En una realización adicional, el antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 se administran simultáneamente.

En una realización, el cáncer es un cáncer seleccionado de entre el grupo que consiste en leucemia, linfoma, blastoma, carcinoma y sarcoma. En otra realización, el cáncer se selecciona de entre el grupo que consiste en leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda positiva para el cromosoma Filadelfia (LLA Ph +), carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal, cáncer de ovarios, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer de páncreas, glioblastoma multiforme, cáncer de cuello uterino, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon y cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, linfoma nasal de células T, mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda (LMA) y leucemia linfocítica crónica (LLC).

Se pueden administrar agentes y terapias adicionales en combinación con los agonistas y antagonistas descritos en el presente documento. En una realización, los métodos comprenden la administración de un agente terapéutico adicional (por ejemplo, una citotoxina o un agente quimioterapéutico).

65

En el presente documento también se proporcionan composiciones que comprenden un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5. El antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, anticuerpo monoclonal o anticuerpo biespecífico). El agonista de DR5 es un anticuerpo anti- DR5 (por ejemplo, anticuerpo monoclonal o anticuerpo biespecífico). En una realización, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 que comprende las CDR o VR de las cadenas pesada y ligera de 5C4.

También se proporcionan kits para tratar un cáncer en un sujeto, comprendiendo el kit:

- (a) una dosis de un antagonista de PD-1;
- (b) una dosis de un agonista de DR5; e
- (c) instrucciones para usar el antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 en los métodos descritos en el presente documento. El agonista de DR5 es un anticuerpo anti- DR5. El antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1. En una realización en particular, el antagonista de PD-1 es 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 la SEQ ID NO: 13 y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 15.

### Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1** es un gráfico que representa la mediana del volumen del tumor en ratones ( $\text{mm}^3$ ) después de la administración de un control, un anticuerpo anti-DR5, un anticuerpo anti-PD-1 o una combinación de un anticuerpo anti-DR5, un anticuerpo anti-PD-1, hasta 23 días después del implante.

La **Figura 2** representa el volumen tumoral en ratones individuales a los que se ha administrado un control (**Figura 2A**), un anticuerpo anti-PD-1 el día 6 después del implante (**Figura 2B**), un anticuerpo anti-PD-1 el día 8 después del implante (**Figura 2C**), un anticuerpo anti-PD-1 el día 9 después del implante (**Figura 2D**), un anticuerpo anti-DR5 el día 8 después del implante (**Figura 2E**), un anticuerpo anti-DR5 el día 8 después del implante en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 el día 6 después del implante (**Figura 2F**), un anticuerpo anti-DR5 el día 8 después del implante en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 el día 8 después del implante (**Figura 2G**), y un anticuerpo anti-DR5 el día 8 después del implante en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 el día 9 después del implante (**Figura 2H**).

La **Figura 3** es un gráfico que representa el porcentaje de cambio de peso corporal después de la administración de un control, un anticuerpo monoclonal anti-DR5, un anticuerpo anti-PD-1 o una combinación de un anticuerpo monoclonal anti-DR5 y un anticuerpo anti-PD-1, hasta 24 días después del implante.

### Descripción detallada de la invención

Tal como se describe en el presente documento, la invención se basa en el descubrimiento de que la coadministración de un agonista de DR5 (por ejemplo, un anticuerpo) y un antagonista de PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo) inhibe eficazmente el crecimiento tumoral *in vivo*, incluso sinérgicamente. Por consiguiente, la presente invención proporciona un antagonista de PD-1 y/o un agonista de DR5 para su uso en un método para el tratamiento de cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) una cantidad eficaz del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5, en el que el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 y el agonista de DR5 es un anticuerpo anti-DR5.

#### I. Definiciones

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que un experto en la técnica entiende habitualmente. Aunque en la práctica o análisis de la invención descrita también se pueden usar cualquier método y composición similar o equivalente a los descritos en el presente documento, en el presente documento se describen los métodos y composiciones preferentes.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" o "paciente" es un paciente humano (por ejemplo, un paciente que tiene cáncer).

Un "tumor sólido" incluye, por ejemplo, sarcoma, melanoma, carcinoma, carcinoma de próstata, carcinoma de pulmón, carcinoma de colon u otro cáncer de tumor sólido.

Los términos "cáncer", "canceroso" o "maligno" se refieren o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, por ejemplo, leucemia, linfoma, blastoma, carcinoma y sarcoma. Los ejemplos más particulares de tales cánceres incluyen leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda positiva para el cromosoma Filadelfia (LLA Ph +), carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal, cáncer de ovarios, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer de páncreas,

glioblastoma multiforme, cáncer de cuello uterino, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon y cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, linfoma nasal de células T, mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda (LMA) y leucemia linfocítica crónica (LLC).

5 Como se usa en el presente documento, "tratamiento eficaz" se refiere a un tratamiento que produce un efecto beneficioso, por ejemplo, la mejora de al menos un síntoma de una enfermedad o trastorno. Un efecto beneficioso puede tomar la forma de una mejora sobre el valor basal, es decir, una mejora sobre una medición u observación realizada antes del inicio de la terapia de acuerdo con el método. Un efecto beneficioso también puede tomar la forma de detener, ralentizar, retardar o estabilizar una progresión perjudicial de un marcador de cáncer. El tratamiento eficaz puede referirse al alivio de al menos un síntoma de cáncer. Dicho tratamiento 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 del tumor.

15 El término "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un agente que proporciona el resultado biológico, terapéutico y/o profiláctico deseado. Ese resultado puede ser reducción, mejoría, paliación, disminución, 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 los tumores sólidos, una cantidad eficaz comprende una cantidad suficiente para hacer que un tumor se contraiga y/o disminuya la velocidad de crecimiento del tumor (tal como para suprimir el crecimiento del tumor) o para prevenir o retrasar otra proliferación celular no deseada. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para retrasar el desarrollo del tumor. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para prevenir o retrasar la recurrencia del 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 del tumor; (iii) inhibir, retardar, ralentizar en cierta medida y puede detener la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; (iv) inhibir (es decir, ralentizar en cierta medida y puede detener la metástasis tumoral; (v) inhibir el crecimiento del tumor; (vi) prevenir o retrasar la aparición y/o recurrencia del tumor; y/o (vii) aliviar hasta cierto punto una o más de los síntomas asociados con el cáncer. En un ejemplo, una "cantidad eficaz" es la cantidad de un antagonista de PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo) y un anticuerpo agonista de DR5 (por ejemplo, un anticuerpo), en combinación, para efectuar una disminución significativa del cáncer o ralentizar la progresión del cáncer, tal como un tumor sólido avanzado.

Como se usa en el presente documento, el término "antagonista" se refiere a una molécula que bloquea (por ejemplo, reduce o previene) una actividad biológica.

35 Como se usa en el presente documento, el término "agonista" se refiere a una molécula que desencadena (por ejemplo, inicia o promueve), mejora parcial o totalmente, estimula o activa una o más actividades biológicas. Los agonistas a menudo imitan la acción de una sustancia de origen natural. Mientras que un agonista provoca una acción, un antagonista bloquea la acción del agonista.

40 Como se usa en el presente documento, el término "ligando" se refiere a una molécula que forma un complejo con una biomolécula (por ejemplo, un receptor) para servir a un propósito biológico. En un sentido menos amplio, es una molécula que desencadena señales, uniéndose a un sitio en una proteína diana. La unión se produce por fuerzas intermoleculares, tales como enlaces iónicos, enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. El acoplamiento (asociación) suele ser reversible (disociación). La unión covalente irreversible real entre un ligando y su molécula diana es rara en los sistemas biológicos. La unión del ligando a un receptor (proteína receptora) altera su conformación química (forma tridimensional). El estado conformacional de una proteína receptora determina su estado funcional.

50 Como se usa en el presente documento, los términos "sinergia", "sinergia terapéutica" y "efecto sinérgico" se refieren a un fenómeno en el que el tratamiento de pacientes con una combinación de agentes terapéuticos (por ejemplo, antagonista de PD-1 en combinación con agonista de DR5) manifiesta un resultado terapéuticamente superior al resultado alcanzado por cada componente individual de la combinación utilizada en su dosis óptima (véase, por ejemplo, T. H. Corbett et al., 1982, Cancer Treatment Reports, 66, 1187). En este contexto, un resultado terapéuticamente superior es aquel en el que los pacientes a) presentan menos incidencias de acontecimientos adversos mientras reciben un beneficio terapéutico que es igual o mayor que cuando los componentes individuales de la combinación se administran como monoterapia a la misma dosis que en la combinación, o b) no muestran toxicidad limitante de la dosis mientras reciben un beneficio terapéutico que es mayor que el del tratamiento con cada componente individual de la combinación cuando cada constituyente se administra en las mismas dosis en la combinación o combinaciones, como se administra como componentes individuales. En modelos de xenoinjerto, una combinación, utilizada en su dosis máxima tolerada, en la que cada uno de los constituyentes estará presente a una dosis que generalmente no excede su dosis tolerada máxima individual, manifiesta una sinergia terapéutica cuando disminuye el crecimiento del tumor obtenido mediante la administración de la combinación es mayor que el valor de la disminución del crecimiento tumoral del mejor constituyente cuando el constituyente se administra solo.

65 Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" incluye anticuerpos enteros y cualquier fragmento de unión a antígeno (es decir, "fragmentos de unión al antígeno" (también conocidos como "porciones de unión al

antígeno")) o cadenas individuales de los mismos. Los anticuerpos enteros son glicoproteínas que comprenden al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por puentes disulfuro. Cada cadena pesada está compuesta por una región variable de la cadena pesada (en la presente memoria descriptiva abreviada como  $V_H$ ) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada está compuesta por tres dominios,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ . Cada cadena ligera está compuesta por una región variable de la cadena ligera (en la presente memoria descriptiva abreviada como  $V_L$ ) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera está compuesta por un dominio,  $C_L$ . Las regiones  $V_H$  y  $V_L$  se pueden subdividir en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones de armazón (FR). Cada  $V_H$  y  $V_L$  está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interacciona con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar la unión de la inmunoglobulina a tejidos o factores del huésped, incluyendo varias células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico. El término "anticuerpo" también abarca anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos completamente humanos, así como formas multiméricas de anticuerpos, tales como minicuerpos, bis-scFv, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos y multímeros de Fab' conjugados químicamente.

El término "fragmento de anticuerpo" (también denominado "fragmento de unión al antígeno" o "porción de unión al antígeno"), como se usan en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a un antígeno). Se ha demostrado que la función de unión a antígeno de un anticuerpo se puede realizar mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Ejemplos de fragmentos de unión abarcados dentro del término "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  y  $C_{H1}$ ; (ii) un fragmento  $F(ab')_2$ , un fragmento bivalente es esencialmente un Fab con parte de la región bisagra (véase FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY (Paul ed., 3ª ed. 1993); (iv) un fragmento Fd que consiste en los dominios  $V_{H1}$  y  $C_{H1}$ ; (v) un fragmento Fv que consiste en los dominios  $V_L$  y  $V_H$  de un solo brazo de un anticuerpo, (vi) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546) que consiste en un dominio  $V_H$ ; (vii) una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada; y (viii) un nanocuerpo (también conocido como un anticuerpo de dominio único (sdAb)), que es una región variable de cadena pesada que contiene un único dominio variable y dos dominios constantes. Los anticuerpos de dominio único incluyen fragmentos  $V_HH$  (anticuerpos de un solo dominio modificados a partir de anticuerpos de cadena pesada encontrados en camélidos, así como fragmentos de VNAR (anticuerpos de un solo dominio obtenidos de anticuerpos de cadena pesada (IgNAR, "receptor de antígeno nuevo de inmunoglobulina") de peces cartilaginosos).

Los "armazones de unión al antígeno" son proteínas que se unen específicamente a una diana (o antígeno) o epítipo, tales como proteínas que comprenden un pliegue Ig o un pliegue similar a Ig, por ejemplo, las proteínas de unión a DR5 descritas en los documentos WO2009/058379 y WO2011/130328. Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos son también armazones de unión al antígeno. Los armazones unión al antígeno pueden ser monovalentes, multivalentes, por ejemplo, bivalentes, trivalentes, tetravalentes o se unen a 5, 6 o más epítopos. Los armazones de unión a antígeno multivalentes pueden ser mono-específicos o multi-específicos, es decir, unirse a múltiples (al menos 2, 3, 4 o 5) epítopos que son diferentes entre sí. Por ejemplo, un armazón de unión a antígeno mono-específico multivalente es una proteína que se une a por lo menos 2, 3, 4 o 5 epítopos idénticos, y puede ser una proteína que comprende al menos 2, 3, 4 o 5 porciones idénticas de unión a antígeno. Por ejemplo, los armazones de unión a DR5 pueden comprender 2-10, por ejemplo, 2-6, 2-5, 2-4 o 2-3 porciones de unión a DR5, que pueden ser iguales o diferentes entre sí.

Un anticuerpo multivalente incluye anticuerpos que comprenden al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más porciones de unión a antígeno de anticuerpos, en los que las porciones de unión a antígeno pueden comprender una porción de una cadena pesada y una porción de una cadena ligera. Una porción de unión a antígeno puede estar en un único polipéptido o comprender más de un polipéptido. Por ejemplo, un anticuerpo multivalente puede comprender 2-10 porciones de unión a antígeno, que pueden ser iguales o diferentes entre sí. Un anticuerpo multivalente puede ser mono-específico o multi-específico. Un anticuerpo multi-específico puede ser bio-específico, tri-específico, tetra-específico o unirse a 5 o más epítopos diferentes.

Adicionalmente, aunque los dos dominios del fragmento Fv,  $V_L$  y  $V_H$ , están codificados por genes diferentes, se pueden unir, utilizando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que les permite ser fabricados como una única cadena de proteínas en la que las regiones  $V_L$  y  $V_H$  se unen para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena sencilla (scFv); véase, por ejemplo, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; y Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Estos anticuerpos de cadena sencilla también se pretende que entren dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo. Estos fragmentos de anticuerpo se obtienen usando técnicas convencionales conocidas para los expertos en la técnica y los fragmentos se seleccionan según su utilidad del mismo modo que son anticuerpos intactos.

Como se usa en el presente documento, un armazón de unión al antígeno que "se une específicamente" a un antígeno o epítipo del mismo es un armazón de unión al antígeno que se une al antígeno o epítipo del mismo con

una  $K_D$  de  $10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-9}$  M,  $5 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-10}$  M,  $5 \times 10^{-11}$  M,  $10^{-11}$  M,  $5 \times 10^{-12}$  M,  $10^{-12}$  M o menos. Por ejemplo, un armazón de unión a antígeno que se une específicamente a DR5 es un armazón de unión a antígeno que se une a DR5 con una  $K_D$  de  $10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-9}$  M,  $5 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-10}$  M,  $5 \times 10^{-11}$  M,  $10^{-11}$  M,  $5 \times 10^{-12}$  M,  $10^{-12}$  M o menos. Por ejemplo, con un anticuerpo que "se une específicamente a PD-1 humano" o "se une específicamente a PD-L1 humano" se pretende hacer referencia a un anticuerpo que se une a PD-1 o a PD-L1 humanos, respectivamente, con una  $K_D$  de  $10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-9}$  M,  $5 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-10}$  M,  $5 \times 10^{-11}$  M,  $10^{-11}$  M,  $5 \times 10^{-12}$  M,  $10^{-12}$  M o menos. Un armazón de unión a antígeno que comprende 2 o más regiones que se unen a un antígeno o epítipo puede unirse específicamente al antígeno o epítipo incluso si tiene una menor afinidad de unión al antígeno o epítipo que los intervalos proporcionados anteriormente, ya que se unirá al antígeno o epítipo con mayor avidez.

Un anticuerpo "bienespecífico" o "bifuncional" es un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos pares de cadena pesada/ligera diferentes y dos sitios de unión diferentes. Los anticuerpos bienespecíficos se pueden producir mediante diversos procedimientos, incluidos fusión de hibridomas o unión de fragmentos Fab'. Véase, por ejemplo, Songsivilai y Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992).

La expresión "anticuerpo monoclonal" o "composición de anticuerpo monoclonal", como se usan en el presente documento, se refiere a un anticuerpo o una composición de anticuerpos que muestra una única especificidad y afinidad de unión por un epítipo concreto. Por consiguiente, la expresión "anticuerpo monoclonal humano" o "composición de anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo o una composición de anticuerpos que muestra una única especificidad de unión y que tiene regiones constantes variables y opcionales derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. En una realización, los anticuerpos monoclonales humanos son producidos por un hibridoma que incluye una célula B obtenida a partir de un animal transgénico no humano, por ejemplo, un ratón transgénico, que tiene un genoma que comprende un transgén de cadena pesada humana y un transgén de cadena ligera fusionado a una célula inmortalizada.

El término "epítipo" o "determinante antigénico" se refiere a un sitio sobre un antígeno al que se une específicamente una inmunoglobulina o anticuerpo. Los epítipos se pueden formar a partir de aminoácidos contiguos o aminoácidos no contiguos yuxtapuestos mediante el plegamiento terciario de una proteína. Los epítipos formados a partir de aminoácidos contiguos se retienen normalmente por exposición a disolventes desnaturizantes, mientras que los epítipos formados por plegamiento terciario normalmente se pierden en el tratamiento con disolventes desnaturizantes. Un epítipo incluye normalmente al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 aminoácidos en una conformación espacial única. Los métodos para determinar la conformación espacial de los epítipos incluyen técnicas en la materia y aquéllas descritas en el presente documento, por ejemplo, cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear bidimensional (véase, por ejemplo, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Volumen 66, G. E. Morris, Ed. (1996)).

El término "cartografía de epítipos" se refiere al proceso de identificación de los determinantes moleculares para el reconocimiento de anticuerpo-antígeno.

El término "se une al mismo epítipo", con referencia a dos o más anticuerpos, significa que los anticuerpos compiten por la unión a un antígeno y se unen a los mismos segmentos continuos o discontinuos de aminoácidos, que se superponen o abarcan. Los expertos en la materia entienden que la frase "se une al mismo epítipo" no significa necesariamente que los anticuerpos se unen exactamente a los mismos aminoácidos. Los aminoácidos precisos a los que se unen los anticuerpos pueden diferir. Por ejemplo, un primer anticuerpo puede unirse a un segmento de aminoácidos que está completamente abarcado por el segmento de aminoácidos unido por un segundo anticuerpo. En otro ejemplo, un primer anticuerpo se une a uno o más segmentos de aminoácidos que superponen significativamente el uno o más segmentos unidos por el segundo anticuerpo. Para los fines del presente documento, se considera que tales anticuerpos "se unen al mismo epítipo."

Por consiguiente, los anticuerpos para su uso de acuerdo con la presente invención también abarcan anticuerpos que se unen a un epítipo que comprende la totalidad o una parte de un epítipo reconocido por los anticuerpos particulares descritos en el presente documento (por ejemplo, la misma o una región superpuesta o una región entre o que abarca la región).

Los anticuerpos para su uso de acuerdo con la invención también abarcan anticuerpos que se unen al mismo epítipo y/o anticuerpos que compiten por la unión con los anticuerpos descritos en el presente documento. Los anticuerpos que reconocen el mismo epítipo o compiten por la unión se pueden identificar usando técnicas rutinarias. Tales técnicas incluyen, por ejemplo, un inmunoensayo, que muestra la capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a un antígeno diana, es decir, un ensayo de unión competitiva. La unión competitiva se determina en un ensayo en el que la inmunoglobulina que se está analizando inhibe la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común. Se conocen numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: radioinmunoensayo (RIA) directo o indirecto en fase sólida, inmunoensayo enzimático (EIA) directo o indirecto en fase sólida, ensayo de competición en sándwich (véase Stahl et al., Methods in Enzymology 9:242 (1983)); EIA de fase sólida directa de biotina-avidina (véase, Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614 (1986)); ensayo marcado directo de fase sólida, ensayo de tipo sándwich marcado directo de fase sólida (véase



Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, 1988)); RIA de marcaje directo de fase sólida usando un marcaje de-125 (véase Morel et al., *Mol. Immunol.* 25(1):7 (1988)); EIA de fase sólida directa de biotina-avidina (Cheung et al., *Virology* 176:546 (1990)); y RIA marcado directo. (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990)). Normalmente, dicho ensayo implica el uso de antígeno purificado unido a una superficie  
 5 sólida o células que portan cualquiera de estos, una inmunoglobulina de ensayo no marcada y una inmunoglobulina de referencia marcada. La inhibición competitiva se mide determinando la cantidad de marcaje unido a la superficie sólida o a las células en presencia de la inmunoglobulina de ensayo. Normalmente, la inmunoglobulina de ensayo está presente en exceso. Normalmente, cuando un anticuerpo competidor está presente en exceso, presentará  
 10 unión de un anticuerpo de referencia frente a un antígeno de referencia a un antígeno común en al menos un 50 % - 55 %, 55-60 %, 60-65%, 65-70 % 70-75 % o más.

Otras técnicas incluyen, por ejemplo, métodos de mapeo de epítomos, tales como, análisis de rayos X de cristales de complejos antígeno: anticuerpo que proporcionan la resolución atómica del epítomo. Otros métodos controlan la  
 15 unión del anticuerpo a fragmentos de antígeno o variaciones mutadas del antígeno en las que la pérdida de unión debida a una modificación de un residuo de aminoácido dentro de la secuencia de antígeno se considera a menudo una indicación de un componente de epítomo. Además, también se pueden utilizar métodos combinatorios computacionales para el mapeo de epítomos. Estos métodos se basan en la capacidad del anticuerpo de interés para  
 20 aislar por afinidad péptidos cortos específicos de bibliotecas combinadas de péptidos de presentación de fagos. Por tanto, los péptidos se consideran conductores para la definición del epítomo correspondiente al anticuerpo usado para cribar la biblioteca de péptidos. Para el mapeo de epítomos, también se han desarrollado algoritmos computacionales que ha demostrado que mapean epítomos conformacionales discontinuos.

Además, en el presente documento se describen moléculas quiméricas (o moléculas de fusión) que comprenden un  
 25 dominio de unión al antígeno, o equivalente, fusionado a otro polipéptido o molécula. Por ejemplo, los polipéptidos pueden fusionarse o conjugarse con una región Fc del anticuerpo, o a parte de la misma (por ejemplo, una proteína de fusión Fc). La porción de anticuerpo fusionada a un polipéptido puede comprender la región constante, la región bisagra, el dominio CH1, el dominio CH2 y el dominio CH3 o cualquier combinación de dominios enteros o porciones de los mismos. Los polipéptidos también pueden estar fusionados o conjugados a las porciones de anticuerpo  
 30 anteriores para formar multímeros. Por ejemplo, las porciones Fc fusionadas a los polipéptidos descritos en el presente documento pueden formar dímeros a través de enlaces disulfuro entre las porciones Fc. Pueden prepararse formas multiméricas superiores fusionando los polipéptidos a porciones de IgA e IgM. Los métodos para fusionar o conjugar los polipéptidos descritos en el presente documento a porciones de anticuerpos se conocen en la materia. Véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números 5.336.603, 5.622.929, 5.359.046, 5.349.053, 5.447.851 y 5.112.946; el documento EP 307.434; el documento EP 367.166; las publicaciones PCT n.º WO  
 35 96/04388 y WO 91/06570; Ashkenazi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:10535-10539 (1991); Zheng et al., *J. Immunol.*, 154:5590-5600 (1995); y Vil et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:11337-11341 (1992).

Como se usa en el presente documento, El término "inmunoconjugado" se refiere a un anticuerpo unido a un resto  
 40 terapéutico, tal como citotoxina, un fármaco o un radioisótopo. Cuando se conjugan con una citotoxina, estos conjugados de anticuerpo se denominan "inmunotoxinas". Una citotoxina o agente citotóxico incluye cualquier agente que sea perjudicial para las células (por ejemplo, las mata). Ejemplos incluyen taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxiantracindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-  
 45 deshidrotosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol y puromicina, y análogos u homólogos de los mismos. Los agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a los mismos, antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracilo descabazina), agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, tioepa clorambucilo, melfalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptoizotocina, mitomicina C y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino),  
 50 antraciclina (por ejemplo, daunorubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina y antramicina (AMC)), y agentes antimetabólicos (por ejemplo, vincristina y vinblastina). Los anticuerpos para el uso de acuerdo con la presente invención pueden conjugarse con un radioisótopo, *por ejemplo*, yodo radiactivo, para generar radiofármacos citotóxicos para el  
 tratamiento del cáncer.

Los inmunoconjugados se pueden usar para modificar una respuesta biológica dada y el resto farmacológico no  
 55 debe interpretarse como limitado a agentes terapéuticos químicos clásicos. Por ejemplo, el resto farmacológico puede ser una proteína o polipéptido que posee una actividad biológica deseada. Dichas proteínas pueden incluir, por ejemplo, una toxina enzimáticamente activa o fragmento activo de la misma, tal como abrina, ricina A, exotoxina de pseudomonas o toxina diftérica; una proteína tal como el factor de necrosis tumoral o interferón- $\gamma$ ; o,  
 60 modificadores de la respuesta biológica, tales como, por ejemplo, linfocinas, interleucina-1 ("IL-1"), interleucina-2 ("IL-2"), interleucina-6 ("IL-6"), factor estimulante de las colonias de granulocitos ("GM-CSF"), factor estimulante de las colonias de granulocitos ("G-CSF") u otros factores de crecimiento.

Las técnicas para conjugar dichos restos terapéuticos a anticuerpos son bien conocidas, véase, por ejemplo, Arnon  
 65 et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld et al. (eds.), pág. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug

Delivery", en *Controlled Drug Delivery* (2ª Ed.), Robinson et al. (eds.), pág. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", en *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera et al. (eds.), pág. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin et al. (eds.), pág. 303-16 (Academic Press 1985) y Thorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", *Immunol. Rev.*, 62:119-58 (1982).

Como se usa en el presente documento, el término "multivalente" se refiere a una molécula recombinante que incorpora más de dos segmentos biológicamente activos. Los fragmentos de proteína que forman la molécula multivalente opcionalmente pueden estar enlazados a través de un enlace polipeptídico que une las partes constituyentes y permite que cada una funcione independientemente.

Se entiende que "aproximadamente" tal como se utiliza en el presente documento, cuando hace referencia a un valor mensurable, tal como una cantidad, una duración temporal, y similares, abarca variaciones de + - 20 % o + - 10 %, más preferentemente +-5 %, incluso más preferentemente + - 1 %, y aún más preferentemente + - 0,1 % del valor especificado, ya que tales variaciones son apropiadas para realizar los métodos divulgados.

"Porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" se define en el presente documento como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de aminoácidos en una secuencia seleccionada, después de alinear las secuencias e introducir los huecos, si es necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia y no considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. La alineación con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos se puede realizar de varias formas dentro de la experiencia en la técnica usando, por ejemplo, software informático disponible públicamente tal como el software BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para medir la alineación, incluyendo cualquier algoritmo necesario para conseguir la alineación máxima sobre toda la longitud de las secuencias que se comparan.

Para los fines del presente documento, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos dada A a, o con, o contra, una secuencia de aminoácidos dada B (que puede, como alternativa, redactarse como una secuencia de aminoácidos dada A o tiene comprende un determinado % de identidad de la secuencia de aminoácidos con, o contra, una secuencia de aminoácidos dada B) se calcula del siguiente modo: 100 veces la fracción X/Y, en la que X es el número de residuos de aminoácidos puntuados como pares idénticos por un programa de alineación de secuencia, tal como BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 o Megalign (DNASTAR), en la alineación del programa de A y B, y en la que Y es el número total de residuos de aminoácidos en B. Se apreciará que cuando la longitud de la secuencia de aminoácidos A no es igual a la longitud de la secuencia de aminoácidos B, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de A a B no será igual al % de identidad de secuencia de aminoácidos de B a A.

## II. Antagonistas de PD-1

Como se usa en el presente documento, los términos "Muerte programada 1", "Muerte celular programada 1", "Proteína PD-1", "PD-1," PD1," "PDCD1," "hPD-1" y "hPD-I" se usan de forma indistinta e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especies de PD-1 humano y análogos que tienen al menos un epítipo común con PD-1 humano. La secuencia de PD-1 humana completa puede encontrarse con el número de acceso GenBank U64863 (SEQ ID NO: 23).

Como se usa en el presente documento, los términos "ligando 1 de la muerte celular programada 1", "PD-L1", "PDL1", "PDCD1L1", "PDCD1LG1", "CD274", "homólogo 1 de B7", "B7-H1", "B7-H" y "B7H1" se usan de forma indistinta e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especies de PDL-1 humana, y análogos que tienen al menos un epítipo común con el PDL-1 humano. La secuencia de aminoácidos de PD-L1 humana completa, precursor de la isoforma a, puede encontrarse con el número de acceso NP\_054862.1 (SEQ ID NO:24). La secuencia de aminoácidos de PD-L1 humana completa, precursor de la isoforma b, puede encontrarse con el número de acceso NP\_001254635.1 (SEQ ID NO:25).

La proteína Muerte programada 1 (PD-1) es un miembro inhibidor de la familia de receptores CD28, que también incluye CD28, CTLA-4, ICOS y BTLA. PD-1 se expresa en células B, células T y células mieloides activadas (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 sus efectos funcionales sobre el aumento de la proliferación de células 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 detección selectiva de la expresión diferencial en las células apoptóticas (Ishida et al. (1992) *EMBO J* 11:3887-95). Los otros miembros de la familia, CTLA-4 y BTLA, se descubrieron mediante la detección selectiva para la expresión diferencial en linfocitos T citotóxicos y células TH1, respectivamente. CD28, ICOS y CTLA-4 tienen todos un residuo de cisteína no emparejado que permite la homodimerización. Por el contrario, se sugiere que PD-1 existe como un monómero, careciendo del resto de cisteína no apareado característico de otros miembros de la

familia de CD28.

El gen de PD-1 es una proteína transmembrana de tipo I de 55 kDa que forma parte de la superfamilia del gen de Ig (Agata et al. (1996) *Int Immunol* 8:765-72). PD-1 contiene un motivo inhibidor de la inmunorreceptor de tirosina proximal de la membrana (ITIM) y un motivo de conmutación basado en la tirosina distal de la membrana (ITSM) (Thomas, M.L. (1995) *JExp Med* 181:1953-6; Vivier, E y Daeron, M (1997) *Immunol Today* 18:286-91). Aunque estructuralmente similar a CTLA-4, PD-1 carece del motivo MYPPPY (SEQ ID NO: 27) que es crucial para la unión de B7-1 y B7-2.

Consistente con que PD-1 es un miembro inhibidor de la familia de CD28, los animales deficientes en PD-1 desarrollan varios fenotipos autoinmunes, incluyendo miocardiopatía autoinmune 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). Adicionalmente, se ha descubierto que la PD-1 desempeña un papel en la encefalomiелitis autoinmune, el lupus eritematoso sistémico, la enfermedad del injerto contra el huésped (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 tumoral de células B murinas, se demostró que el ITSM de PD-1 es esencial para bloquear el flujo de  $Ca^{2+}$  mediado por BCR y la fosforilación de tirosina de moléculas efectoras aguas abajo (Okazaki et al. (2001) *PNAS* 98:13866-71).

Se han identificado dos ligandos para PD-1, PD-L1 y PD-L2, que se ha demostrado que regulan por disminución la activación de células T tras 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 de 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 disminución de linfocitos infiltrantes de tumores, una disminución de la proliferación mediada por receptores de células T y una evasión inmune por las células cancerosas (Dong et al. (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). La supresión inmunitaria 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).

Los métodos de tratamiento del cáncer descritos en el presente documento implican el uso de un antagonista de PD-1 (un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con un agonista de DR5 que es un anticuerpo anti-DR5), para tratar el cáncer. Por consiguiente, los antagonistas de PD-1 utilizados de acuerdo con la invención se unen directamente al receptor de PD-1, sin comprometer la transducción de señales a través del receptor PD-1. En una realización, el antagonista de PD-1 se une directamente a PD-1 y bloquea la transducción de la señal inhibidora de PD-1. Además, en el presente documento se describen antagonistas de PD-1 que se unen a uno o más ligandos de PD-1 (por ejemplo, PD-L1 y PD-L2) y reducen o inhiben que el ligando o ligandos desencadenen la transducción de la señal inhibitoria a través de la PD-1, por ejemplo, antagonistas de PD-1 que se une directamente a PD-L1, inhibiendo o impidiendo que PD-L1 se una a PD-1, bloqueando de este modo la transducción de señales inhibitorias de PD-1.

Los antagonistas de PD-1 utilizados de acuerdo con la presente invención o en las composiciones de la presente invención son anticuerpos anti-PD-1 ("anticuerpos PD-1"). Además, en el presente documento se describen antagonistas de PD-1 que son proteínas de soporte de la unión a PD-1, ligandos PD-1 o agentes multivalentes, por ejemplo proteínas de fusión, tales como AMP-224. Los anticuerpos anti-PD-1 humano (o dominios VH y/o VL derivados de los mismos) adecuados para su uso en la invención pueden generarse usando métodos bien conocidos en la técnica. De manera alternativa, pueden usarse anticuerpos anti-PD-1 reconocidos en la técnica. Por ejemplo, pueden usarse los anticuerpos MK-3475 o CT-011. Adicionalmente, se pueden usar los anticuerpos monoclonales 5C4, 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 y 5F4, descritos en el documento WO 2006/121168. También pueden usarse anticuerpos que compiten con cualquiera de estos anticuerpos reconocidos en la técnica para unirse a PD-1.

Un anticuerpo anti-PD-1 de ejemplo es 5C4, que comprende cadenas pesadas y ligeras que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente, o fragmentos de unión a antígeno y variantes de los mismos. En otras realizaciones, el anticuerpo comprende las CDR o regiones variables de las cadenas pesada y ligera de 5C4. Por consiguiente, en una realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH de 5C4 que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 13, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL de 5C4 que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 15. En otra realización, el anticuerpo comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 17, 18, y 19, respectivamente, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 20, 21, y 22, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende las regiones VH y/o VL que tienen las secuencias de aminoácido expuestas en la SEQ ID NO: 13 y/o la SEQ ID NO: 15, respectivamente. En otra realización, el anticuerpo comprende las regiones variables de cadena pesada (VH) y/o de cadena ligera (VL) codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en la SEQ ID NO: 14 y/o la SEQ ID NO: 16, 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 una identidad de secuencia de aminoácidos de la región variable de al menos aproximadamente un 90 % con los anticuerpos mencionados

anteriormente (por ejemplo, una identidad de la región variable de al menos un 90 %, 95 % o 99 % con la SEQ ID NO: 13 o la SEQ ID NO: 15).

5 En determinadas realizaciones, los anticuerpos de PD1 exhiben una o más propiedades funcionales deseables, tales como unión de alta afinidad a PD-1, por ejemplo, unión a PD-1 humano con una  $K_D$  de  $10^{-7}$  M o menos; falta de reactividad cruzada significativa con otros miembros de la familia de CD28, por ejemplo, CD28, CTLA-4 e ICOS; la capacidad de estimular la proliferación de células T en un ensayo de reacción linfocitaria mixta (RLM); la capacidad para aumentar la secreción de IFN- $\gamma$  y/o IL-2 en una RLM; la capacidad para inhibir la unión de uno o más ligandos de PD-1 (por ejemplo, PD-L1 y/o PD-L2) a PD-1; la capacidad de estimular respuestas de memoria específicas de antígeno; la capacidad para estimular respuestas de anticuerpos y/o la capacidad para inhibir el crecimiento de células tumorales *in vivo*.

15 Además, en el presente documento se describen antagonistas de PD-1 que son anticuerpos anti-PD- L1. Los anticuerpos anti-PD-L1 humano (o dominios VH y/o VL derivados de los mismos) pueden generarse usando métodos bien conocidos en la técnica. De manera alternativa, se pueden usar anticuerpos anti-PD-L1 reconocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar MEDI4736 (también conocido como Anti-B7-H1) o MPDL3280A (también conocido como RG7446). Adicionalmente, se pueden usar los anticuerpos monoclonales 12A4, 3G10, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 y 13G4, descritos en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743. También pueden usarse anticuerpos que compiten con cualquiera de estos anticuerpos reconocidos en la técnica para unirse a PD-L1.

25 Un anticuerpo anti-PD-L1 de ejemplo es 12A4 (documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743). El anticuerpo comprende las CDR o VR de las cadenas pesada y ligera de 12A4. El anticuerpo puede comprender los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH de 12A4 que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL de 12A4 que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 3. El anticuerpo puede comprender los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada que tienen las secuencias establecidas en las SEQ ID NO: 5, 6 y 7, respectivamente y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera que tienen las secuencias establecidas en las SEQ ID NO: 8, 9 y 10, respectivamente. El anticuerpo puede comprender las regiones VH y/o VL que tienen las secuencias de aminoácido expuestas en la SEQ ID NO: 1 y/o la SEQ ID NO: 3, respectivamente. El anticuerpo puede comprender las regiones variables de cadena pesada (VH) y/o de cadena ligera (VL) codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en la SEQ ID NO: 2 y/o la SEQ ID NO: 4, respectivamente. El anticuerpo puede competir por la unión con y/o se une al mismo epítipo en PD-L1 que los anticuerpos mencionados anteriormente. El anticuerpo puede tener una identidad de secuencia de aminoácidos de la región variable de al menos aproximadamente un 90 % con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, una identidad de la región variable de al menos aproximadamente un 90 %, 95 % o 99 % con la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 3).

35 Los anticuerpos anti-PD-1 o anti-PD-L1 pueden unirse a PD-1 o PD-L1, respectivamente, con una  $K_D$  de  $10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-9}$  M,  $5 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-10}$  M o menos.

40

### III. Agonistas de DR5

45 En el presente documento se proporciona un agonista de DR5 (un anticuerpo anti-DR5) y/o un antagonista de PD-1 (un anticuerpo anti-PD-1) para su uso en un método para tratar el cáncer, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite (por ejemplo, un sujeto que tiene cáncer), una cantidad terapéuticamente eficaz del agonista de DR5 (que es un agente que induce apoptosis en una célula cancerosa) y el antagonista de PD-1. Otros agentes inductores de la apoptosis incluyen las proteínas DR, tales como DR4 y DR5.

50 Como se usa en el presente documento, los términos "DR5" y "receptor 5 de muerte", también conocido como "miembro 10b de la superfamilia de los receptores del factor de necrosis tumoral", "TNFRSF10B", "CD262", "KILLER", "TRICK2", "TRICKB", "ZTNFR9", "TRAILR", "TRAILR2", "Apo-2" "TRICK2A", "TRICK2B", "TRAIL-R2", "KILLER", "KILLER/DR5", "TR6", "Tango-63", "hAPO8" y TRICK2 (véase, por ejemplo, Sheridan et al., Science, 277:818-821 (1997); Pan et al., Science, 277:815-818 (1997), el documento WO98151793; el documento WO98/41629; Sreaton et al., Curr. Biol., 7:693-696 (1997); Walczak et al., EMBO J., 16:5386-5387 (1997); Wu et al., Nature Genetics, 17:141-143 (1997); el documento WO98/35986; el documento EP870,827; el documento WO98/46643; el documento WO99/02653; el documento WO99/09165; el documento WO99111791; el documento US 2002/0072091; el documento US 2002/0098550; la patente de Estados Unidos n.º 6.313.269; el documento US 2001/0010924; el documento US 2003/01255540; el documento US 2002/0160446, el documento US 2002/0048785; la patente de Estados Unidos n.º 6.342.369; la patente de Estados Unidos n.º 6.569.642, la patente de Estados Unidos n.º 6.072.047, la patente de Estados Unidos n.º 6.642.358; el documento US 6.743.625 se usan de forma indistinta e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especies de DR5 humana y análogos que tienen al menos un epítipo común con DR5. La secuencia completa de DR5 humana puede encontrarse con el número de acceso GenBank AAC01565.1 (SEQ ID NO: 26).

65 DR5 es un miembro de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral (TNF). Se sabe que los ligandos de TNF están entre las citocinas más pleiotrópicas, induciendo un gran número de respuestas celulares, incluyendo

citotoxicidad, actividad antiviral, actividades inmunorreguladoras y la regulación de la transcripción de varios genes. Las respuestas celulares a los ligandos de la familia del TNF incluyen no solo respuestas fisiológicas normales, sino también enfermedades asociadas con un aumento de la apoptosis o la inhibición de la apoptosis. La apoptosis (es decir, muerte celular programada) es un mecanismo fisiológico implicado en la deleción de linfocitos T periféricos del sistema inmunitario y una regulación alterada del mismo puede conducir a una serie de procesos patogénicos diferentes. Las enfermedades asociadas con el aumento de la supervivencia celular o la inhibición de la apoptosis incluyen cánceres, trastornos autoinmunes, infecciones víricas, inflamación, enfermedad del injerto contra el huésped, rechazo agudo de injerto y rechazo crónico de injerto. Las enfermedades asociadas con el aumento de la apoptosis incluyen SIDA, trastornos neurodegenerativos, síndromes mielodisplásicos, lesión isquémica, enfermedad hepática inducida por toxina, choque séptico, caquexia y anorexia.

Los receptores de muerte se caracterizan por sus dominios ricos en cisteína en la región extracelular y los dominios de muerte (DD) en la región intracelular. El dominio de muerte proporciona al receptor de muerte la función de inducir la muerte celular por apoptosis, pero en algún momento también media en otras señales. El ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral, TRAIL (Wiley S R, Schooley K, Smolak P, et al., *Immunity*, 1995, 3:673-682) en combinación con sus dominios de muerte desencadena dos vías de señalización de muerte celular, es decir, la vía del receptor de muerte y la vía de la mitocondria, para matar varias células tumorales, pero no es tóxica para la mayoría de las células humanas normales.

Se han identificado cinco receptores TRAIL, es decir, DR4 (receptor 4 de muerte o denominado TRAIL-R1), DR5, DcR1 (receptor señuelo 1 o denominado TRID/TRAIL-R3/LIT), DcR2 (TRAIL-R4 o denominado TRUNDD) y osteoprotegerina (OPG). Al igual que DR4, DR5 contiene tres dominios ricos en cisteína en su porción extracelular y un único dominio de muerte citoplasmática y es capaz de señalar la apoptosis tras la unión del ligando (o al unirse a una molécula, tal como un agonista (por ejemplo, anticuerpo), que imita la actividad del ligando).

El término "agonista", tal como se utiliza con referencia a DR5, se refiere a cualquier molécula que aumenta, estimula o activa parcial o totalmente una o más actividades biológicas de DR5, *in vitro*, *in situ* o *in vivo*. Ejemplos de tales actividades biológicas de unión de Apo2L/TRAIL a DR5, incluyen apoptosis, así como las que se indican adicionalmente en la bibliografía. Los agonistas de DR5 pueden funcionar de manera directa o indirecta. Por ejemplo, el agonista de DR5 puede funcionar para mejorar, estimular o activar parcial o totalmente una o más actividades biológicas de DR5, *in vitro*, *in situ* o *in vivo* como resultado de su unión directa a DR5, lo que provoca la activación del receptor o la transducción de la señal. El agonista de DR5 también puede funcionar indirectamente para mejorar, estimular o activar indirectamente o parcial o totalmente una o más actividades biológicas de DR5, *in vitro*, *in situ* o *in vivo*, como resultado de, por ejemplo, la estimulación de otra molécula efectora que, a continuación, produce la activación de DR5 o transducción de señal. Se contempla que un agonista puede actuar como una molécula potenciadora que funciona indirectamente para aumentar o incrementar la activación o actividad de DR5.

Un agonista de DR5 puede ser cualquier molécula que aumente directa o indirectamente la actividad de DR5 y reduzca el crecimiento tumoral, ya sea por sí solo o en combinación con otro tratamiento, tal como un antagonista de PD-1. Ejemplos de agonistas de DR5 incluyen armazones de unión a DR5, tales como anticuerpos anti-DR5 ("anticuerpos de DR5"), por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados o totalmente humanos, una porción de unión a antígeno de los mismos o moléculas basadas en o derivadas de cualquiera de estos. Los agonistas de DR5 pueden ser también proteínas que no sean anticuerpos. El agonista de DR5 también incluye ligandos de DR5, por ejemplo, TRAIL y moléculas que derivan o se basan en TRAIL.

Un agonista de DR5 puede ser monovalente o multivalente. En determinadas realizaciones, un agonista de DR5 es bivalente, trivalente, tetravalente o se une a 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más epítopos de DR5, que pueden ser epítopos de DR5 iguales o diferentes. Por ejemplo, un agonista de DR5 puede ser un armazón de unión a DR5 monoespecífico multivalente, por ejemplo, una proteína que comprende un armazón de unión a DR5 que comprende al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más regiones que específicamente se unen al mismo epítipo de DR5, regiones de unión que pueden estar compuestas por la misma secuencia de aminoácidos o una diferente. Por ejemplo, un agonista de DR5 puede ser un armazón de unión de DR5 que comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más repeticiones de la misma región de unión a DR5. Los armazones de unión de a DR5 multiméricos se describen, por ejemplo, en los documentos WO2009/058379, WO2011/130328, WO2010/042890 y WO2011/098520.

En determinadas realizaciones, un agonista de DR5 se une específicamente a DR5, pero no se une significativamente o específicamente a otros miembros de la superfamilia del receptor de TNF, tal como DR4. En otras realizaciones, un agonista de DR5 se une específicamente a DR5 y DR4.

Un ejemplo de un agonista de DR5 es un TRAIL humano recombinante (ligando inductor de la apoptosis relacionado con TNF), por ejemplo, dulanermin (también conocido como AMG -951; disponible en Amgen/Genentech).

De acuerdo con la invención, el agonista de DR5 es un anticuerpo anti-DR5, por ejemplo, un anticuerpo que se une a DR5 humano con una  $K_D$  de  $10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-9}$  M,  $5 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-10}$  M o menos, en el que el anticuerpo inhibe el crecimiento del tumor y/o induce la apoptosis de las células tumorales. En la técnica se conocen numerosos anticuerpos que se unen a DR5 humano y algunos de ellos se han usado en ensayos clínicos.

Cualquiera de estos anticuerpos puede usarse en combinación con un antagonista de PD-1, con la condición de que su combinación de como resultado la inhibición del crecimiento del tumor o la reducción del tamaño del tumor, por ejemplo, en un sujeto que tiene cáncer. Ejemplos de anticuerpos que se unen específicamente al DR5 humano incluyen conatumumab (un anticuerpo específico de hTRAILR2 conocido también como AMG655; disponible en Amgen), drozitumab (un anticuerpo específico de hTRAILR2 también conocido como Apomab, DAB4 y PRO95780; disponible en Genentech), lexatumumab (un anticuerpo específico de hTRAILR2, también conocido como HGS-ETR2; disponible en HGS/Kirin), tigatuzumab (un anticuerpo específico de TRAILR2 humanizado también conocido como CS-1008 y TRA-8; disponible en Daiichi Sankyo), HGSTR2J (un anticuerpo específico de hTRAILR2 también conocido como KMTRS) o LBY-135 (un Ab específico de TRAILR2; disponible en Novartis) (véase, por ejemplo, Ashkenazi et al., Journal of Clinical Investigation 2008; 118:1979-90). En una realización, el agonista de DR5 es un anticuerpo agonista del receptor de muerte biespecífico, véase, por ejemplo, el documento WO2011/039126; disponible en Roche Glycart). En otra realización, el agonista de DR5 es un anticuerpo conjugado a péptidos dirigidos o una citotoxina, Fc-TRAIL humano, (véase, por ejemplo, el documento WO2011/039126; disponible en Roche Glycart). Además, en el presente documento se describe un agonista de DR5 que es un polipéptido-Fc de alta afinidad (véase, por ejemplo, el documento WO20111143614; disponible en Amgen).

Los agonistas de DR5 pueden ser agentes multivalentes, tales como TAS266 (un agonista de nanocuerpo tetramérico dirigido a DR5, véase, por ejemplo, el documento WO2011/098520 y Cancer Research 2012;72:Supplement 1; Resumen 3852; disponible en Novartis y Ablynx), la proteína Tn3 multimérica (véanse, por ejemplo, los documentos WO2009/058379, WO2011/130328 y Cancer Research 2012;72:Supplement 1; Resumen 239; disponible en Medimmune), un multímero (por ejemplo, una construcción polipeptídica con un dominio trimerizante y un polipéptido que se una a DR5; véase el documento WO2010/042890; disponible en Anaphore).

También pueden usarse agentes que compiten por la unión a DR5 con cualquiera de los agentes de ejemplo enumerados en el presente documento y que inhiben el crecimiento del tumor o reducen el tamaño del tumor. También se pueden usar anticuerpos que tienen cadenas VH y VL que comprenden una secuencia de aminoácidos que tienen una identidad de al menos 90%, 95 %, 98 % o 99 % con la de cualquiera de los anticuerpos anti-FR5 enumerados en el presente documento. En determinados métodos descritos en el presente documento, un agonista de DR5 puede reemplazarse con un agonista de DR4. Por lo tanto, un sujeto que tiene cáncer puede tratarse con una combinación de un agonista de DR4 y un antagonista de PD-1. Generalmente, cualquier agente que induce apoptosis en células tumorales puede combinarse con un antagonista de PD-1 para tratar el cáncer. En determinados casos, un agente inductor de apoptosis es un agente que se une específicamente a DR5 y DR4, tal como TRAIL o un agente que imita a TRAIL. Un ejemplo de agonista de DR4 es mapatumumab (HGS-ETR1), que se ha usado en ensayos clínicos de fase 2.

#### IV. Composiciones

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de PD-1 que es un anticuerpo anti-PD-1 y un agonista de DR5 que es un anticuerpo anti-DR5 (por ejemplo, formulados juntos en una composición única o formulados por separado). En una realización, la composición comprende un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5, en la que el antagonista de PD-1 es 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 la SEQ ID NO: 13, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 15. Además, en el presente documento se describen composiciones que comprenden un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5, en las que (a) el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-L1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 1, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 3 y (b) el agonista de DR5 es un anticuerpo.

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

En general, dichas composiciones normalmente comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno o enumerado en la Farmacopea de Estados Unidos u otra farmacopea reconocida generalmente para su uso en animales, particularmente seres humanos. El término "portador" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto. Dichos portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluidos aquellos de origen en el petróleo, animal, de origen vegetal o de origen sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, ricinoleato de glicerol polietilenglicol y similares. Como portadores se pueden usar agua o soluciones salinas acuosas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol, particularmente para soluciones inyectables. Las composiciones líquidas para administración parenteral pueden formularse para administración por inyección o infusión continua. Las vías de administración mediante inyección o infusión incluyen las vías intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intratecal y subcutánea.

Para uso oral, las composiciones farmacéuticas de la presente invención, pueden administrarse, por ejemplo, en forma de comprimidos o cápsulas, polvos, gránulos dispersables, u obleas o como soluciones o suspensiones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los portadores de uso habitual incluyen lactosa, almidón de maíz, carbonato de magnesio, talco y azúcar, y normalmente se añaden agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. Para administración oral en forma de cápsula, los portadores útiles incluyen lactosa, almidón de maíz, carbonato de magnesio, talco y azúcar. Cuando se usan suspensiones acuosas para administración oral, habitualmente se añaden agentes emulsionantes y/o de suspensión.

Además, a las composiciones orales se pueden añadir agentes edulcorantes y/o aromatizantes. Para uso intramuscular, intraperitoneal, subcutáneo e intravenoso, normalmente se usan soluciones estériles del o los ingrediente(s) activo(S) y el pH de las soluciones deberá ajustarse y tamponarse de forma adecuada. Para uso intravenoso, se controlará la concentración total del o los solutos con el fin de convertir en isotónica la preparación.

Para preparar supositorios de acuerdo con la invención, primero se funde una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao, y el ingrediente activo se dispersa homogéneamente en la cera, por ejemplo, mediante agitación. La mezcla homogénea fundida se vierte después en moldes de tamaño conveniente y se dejan enfriar y, de este modo, solidificar.

Las preparaciones líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Dichas preparaciones tienen como ejemplo soluciones de agua o agua/propilenglicol para inyección parenteral. Las preparaciones líquidas pueden incluir también soluciones para administración intranasal.

Las preparaciones en aerosol adecuadas para inhalación pueden incluir soluciones y sólidos en forma de polvo, que pueden combinarse con un portador farmacéuticamente aceptable, tal como un gas comprimido inerte.

También se incluyen preparaciones sólidas que están destinadas a convertirse, poco antes de usar, en preparaciones en forma líquida para administración oral o parenteral. Dichas formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones.

#### V. Poblaciones de pacientes

En el presente documento se proporcionan métodos eficaces para tratar el cáncer en un paciente, por ejemplo, usando una combinación de un agonista de DR5 y un antagonista de PD-1. En una realización, el paciente sufre un cáncer seleccionado de entre el grupo que consiste en leucemia, linfoma, blastoma, carcinoma y sarcoma. En otra realización, el paciente sufre un cáncer seleccionado de entre el grupo que consiste en leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda positiva para el cromosoma Filadelfia (LLA Ph +), carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal, cáncer de ovarios, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer de páncreas, glioblastoma multiforme, cáncer de cuello uterino, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon y cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, linfoma nasal de células T, mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda (LMA) y leucemia linfocítica crónica (LLC).

#### VI. Terapias/agentes adicionales

Las combinaciones de la presente invención (por ejemplo, antagonista de PD-1 combinado con agonista de DR5) también se pueden usar junto con otras terapias bien conocidas que se seleccionan por su utilidad concreta contra el cáncer que se está tratando. Como alternativa, las combinaciones de la presente invención pueden usarse secuencialmente con agente(s) farmacéuticamente aceptable(s) conocidos(s) cuando sea adecuado.

Por ejemplo, los antagonistas de PD-1 y los agonistas de DR5 descritos en el presente documento pueden usarse adicionalmente en combinación (por ejemplo, simultánea o separadamente) con un tratamiento adicional, tal como irradiación, quimioterapia (por ejemplo, usando camptotecina (CPT-11), 5-fluorouracilo ( 5- FU), cisplatino, doxorubicina, irinotecán, paclitaxel, gemcitabina, cisplatino, paclitaxel, doxorubicina, 5-fu o camptotecina + apo21/TRAIL (un combo 6X)), uno o más inhibidores del proteasoma (por ejemplo, bortezomib o MG132 ), uno o más inhibidores de Bcl-2 (por ejemplo, BH3I-2 '(inhibidor de bcl-xl), AT-101 (derivado de R-(-)-gossipol), ABT-263 (molécula pequeña), GX-15-070 (obatoclax) o MCL-1 (antagonistas de la proteína 1 de diferenciación de células de leucemia mieloide), antagonistas de iAP (inhibidor de la proteína de apoptosis) (por ejemplo, smac7, smac4, mimético smac de molécula pequeña, péptidos smac sintéticos (véase Fulda et al., Nat Med 2002;8:808-15), ISIS23722 (LY2181308) o AEG-35156 (GEM-640)), HDAC (inhibidores de la histona desacetilasa), anticuerpos anti-CD20 (por ejemplo, rituximab), inhibidores de la angiogénesis (por ejemplo, bevacizumab), agentes antiangiogénicos dirigidos a VEGF, y VEGFR, triterpenoides sintéticos (véase Hyer et al., Cancer Research 2005;65:4799-808), moduladores de c-FLIP (proteína inhibidora de FLICE celular) (por ejemplo, ligandos naturales y sintéticos de PPAR $\gamma$  (receptor y activado por proliferador de peroxisoma), 5809354 o 5569100), inhibidores de cinasa (por ejemplo, sorafenib) y/o fármacos genotóxicos.

los antagonistas de PD-1 y los agonistas de DR5 descritos en el presente documento pueden usarse adicionalmente en combinación con uno o más agentes citotóxicos antiproliferativos. Las clases de compuestos que pueden usarse como agentes citotóxicos antiproliferativos incluyen, pero no se limitan a los mismos, los siguientes:

- 5 agentes alquilantes (incluyendo, sin limitación, mostazas de nitrógeno, derivados de etilenimina, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas y triazenos): mostaza de uracilo, clormetina, ciclofosfamida (CYTOXAN™) fosfamida, melfalán, clorambucilo, pipobromano, trietilenomelamina, trietilenotiofosforamina, busulfán, carmustina, lomustina, estreptozocina, dacarbazina y temozolomida.
- 10 Antimetabolitos (incluyendo, sin limitación, antagonistas de ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa): metotrexato, 5-fluorouracilo, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fosfato de fludarabina, pentostatina y gemcitabina.

- Los agentes antiproliferativos adecuados para su uso en los métodos descritos en el presente documento incluyen, sin limitación, taxanos, paclitaxel (el paclitaxel está disponible comercialmente como TAXOL.RTM.), docetaxel, discodermolida (DDM), dictiostatina (DCT), pelorusida A, epotilonas, epotilona A, epotilona B, epotilona C, epotilona D, epotilona E, epotilona F, furanoepotilona D, desoxiepotilona BI, [17]-deshidrodesoxiepotilona B, [18]-deshidrodesoxiepotilona B, C12,13-ciclopropil-epotilona A, epotilona A C6-C8 en puente, trans-9,10-deshidroepotilona D, cis-9,10-deshidroepotilona D, 16-desmetilepotilona B, epotilona B10, discodermolida, patupilona (EPO-906), KOS-862, KOS-1584, ZK-EPO, ABJ-789, XAA296A (discodermolida), TZT-1027 (soblidotina), ILX-651 (tasidotina clorhidrato), halicondrina B, mesilato de eribulina (E-7389), hemiasterlina (HTI-286), E-7974, criptoficinas, LY-355703, inmunoconjugados de maitansinoide (DM-1), MKC-1, ABT-751, T1-38067, T-900607, SB-715992 (ispinesib), SB-743921, MK-0731, STA-5312, eleuterobina, 17beta-acetoxi-2-etoxi-6-oxo-B-homo-estra-1,3,5(10)-trien-3-ol, ciclostreptina, isolaulimalida, laulimalida, 4-epi-7-deshidroxi-14,16-didemetil-(+)-discodermolidas y criptotilona 1, además de otros agentes estabilizadores de la microtubulina conocidos en la técnica.

- En los casos en que es deseable hacer que las células proliferativas de forma aberrante permanezcan quiescentes junto con o antes del tratamiento con los métodos quimioterapéuticos descritos en el presente documento, las hormonas y esteroides (incluyendo análogos sintéticos), tales como 17a-etinilestradiol, dietilestilbestrol, testosterona, prednisona, fluoximesterona, propionato de dromostanolona, testolactona, megestrolacetato, metilprednisolona, metil-testosterona, prednisolona, triamcinolona, clorotrianiseno, hidroxiprogesterona, aminoglutetimida, estramustina, medroxiprogesteronaacetato, leuprolida, flutamida, toremifeno, ZOLADEx™, también se pueden administrar al paciente. Al emplear los usos médicos o composiciones de la presente invención, también se pueden administrar, según se desee, otros agentes usados en la modulación del crecimiento o la metástasis tumoral en un contexto clínico, tales como antimiméticos.

- Los métodos para la administración segura y eficaz de la mayoría de los agentes quimioterapéuticos son conocidos por los expertos en la técnica. Además, su administración se describe en la bibliografía estándar. Por ejemplo, la administración de muchos de los agentes quimioterapéuticos se describe en "Physicians' Desk Reference" (PDR), por ejemplo, 1996 edición (Medical Economics Company, Montvale, N.J. 07645-1742, EE.UU.).

- El o los agente(s) quimioterapéutico(s) y/o la radioterapia se pueden administrar de acuerdo con protocolos terapéuticos bien conocidos en la técnica. Será evidente para los expertos en la técnica que la administración del o los agente(s) quimioterapéutico(s) y/o la radioterapia se puede variar en función de la enfermedad que se esté tratando y los efectos conocidos del o los agente(s) quimioterapéutico(s) y/o la radioterapia sobre dicha enfermedad. Asimismo, de acuerdo con los conocimientos del clínico experto, los protocolos terapéuticos (p. ej., cantidades de las dosis y tiempos de administración) se pueden modificar a la luz de los efectos observados de los agentes terapéuticos administrados sobre el paciente y a la luz de las respuestas observadas de la enfermedad a los agentes terapéuticos administrados.

## 50 VII. Protocolos terapéuticos

- Los protocolos terapéuticos adecuados para tratar el cáncer en un paciente incluyen, por ejemplo, administrar al paciente una cantidad eficaz de un antagonista de PD-1 (por ejemplo, anticuerpo) y un agonista de DR5 (por ejemplo, anticuerpo).

- Como se usa en el presente documento, la administración adyuvante o combinado (administración conjunta) incluye la administración simultánea del antagonista y agonista en la misma forma de dosificación o una diferente o la administración por separado del antagonista y agonista (por ejemplo, administración secuencial). Por lo tanto, el antagonista de PD-1 (por ejemplo, anticuerpo) y el agonista de DR5 (por ejemplo, anticuerpo) se pueden administrar simultáneamente en una sola formulación. De manera alternativa, el antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 pueden formularse para administración separada y se administran de forma concurrente o secuencialmente.

- Por ejemplo, el antagonista de PD-1 puede administrarse primero seguido de (por ejemplo, seguido inmediatamente de) la administración del agonista de DR5, o viceversa. En una realización, el antagonista de PD-1 se administra antes de la administración del agonista de DR5. En una realización, el agonista de DR5 se administra antes de la



administración del agonista de PD-1. Dicha administración concurrente o secuencial da como resultado, preferentemente, que tanto el agonista como el antagonista estén simultáneamente presentes en los pacientes tratados. En otra realización, el agonista de DR5 y el antagonista de PD-1 se administran simultáneamente.

5 En un tratamiento de ejemplo, se administra a un sujeto una dosis única de un agonista de DR5 y al menos 2 dosis de un antagonista de PD-1, por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1. En cierta realización, un sujeto recibe una dosis única de un agonista de DR5 y al menos 2, 3, 4, 5 o más dosis de un antagonista de PD-1. Las dosis múltiples de antagonista de PD-1 pueden proporcionarse como una dosis al día, una dosis cada 2 días, una dosis cada 3 días, una dosis cada 4 días, una dosis cada 5 días o menos frecuentemente. En determinadas realizaciones, en las que se proporciona un antagonista de PD-1 como 1 dosis cada 1, 2, 3, 4, 5 o más días, puede proporcionarse la dosis única de agonista de DR5 en un día en el que el antagonista de PD-1 se proporciona o en un día en que no se proporciona. El número total de dosis de antagonista de PD-1 puede ser 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más.

15 En determinadas realizaciones, se administran dosis múltiples (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) de un agonista de DR5 y múltiples (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) dosis de un antagonista de PD-1 a un sujeto que necesita tratamiento. La administración del agonista de DR5 y del antagonista de PD-1 puede ser el mismo día o, como alternativa, el antagonista de DR5 se puede administrar 1 o más días antes o después del antagonista de PD-1.

20 Las administraciones de un agonista de DR5 y un antagonista de PD-1 pueden realizarse también semanal o mensualmente, en cuyo régimen se pueden administrar el mismo día (por ejemplo, simultáneamente) o uno tras otro (por ejemplo, uno o más días antes o después uno de otro).

25 En una realización, la dosis del antagonista de PD-1 y/o agonista de DR5 se varía con el tiempo. Por ejemplo, el antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 se pueden administrar inicialmente a una dosis alta y se pueden reducir con el tiempo. En otra realización, el antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 se administran inicialmente a una dosis baja y se incrementa con el tiempo.

30 En otra realización, la cantidad de antagonista de PD-1 y/o agonista de DR5 administrada es constante para cada dosis. En otra realización, la cantidad de antagonista de PD-1 y/o agonista de DR5 varía con cada dosis. Por ejemplo, la dosis de mantenimiento (o seguimiento) del antagonista y/o agonista puede ser mayor o igual que la dosis de carga que se administra primero. En otra realización, la dosis de mantenimiento del antagonista y/o agonista puede ser menor o igual que la dosis de carga. Un médico clínico puede utilizar dosificaciones preferidas según se justifique por el estado del paciente que está tratando. La dosis puede depender de una serie de factores, incluyendo el estadio de la enfermedad, etc. La dosis específica que debe administrarse basándose en la presencia de uno o más de tales factores está dentro de la experiencia del experto. Generalmente, el tratamiento se inicia con dosis más pequeñas por debajo de la dosis óptima del compuesto. A continuación, la dosis se aumenta en pequeñas cantidades hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias dadas. Por comodidad, la dosificación diaria total se puede dividir y administrar en porciones durante el día, si se desea. También se puede usar terapia intermitente (por ejemplo, una semana de cada tres semanas o tres de cada cuatro semanas).

45 En una realización, el agonista de DR5 (por ejemplo, anticuerpo) se administra a una dosis de 0,1, 0,3, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg de peso corporal. En otra realización, el antagonista de PD-1 (por ejemplo, anticuerpo) se administra a una dosis de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg de peso corporal. Generalmente, 200 µg/ratón es aproximadamente 10 mg/kg y 100 µg/ratón es aproximadamente 5 mg/kg. Por lo tanto, basándose en los experimentos descritos en el presente documento, se pueden administrar a un sujeto una o más dosis de 1-20 mg/kg de peso corporal, 1-10 mg/kg de peso corporal, 5-20 mg/kg de peso corporal o 5-10 mg/kg de peso corporal de un agonista de DR5 y un antagonista de PD-1. En determinadas realizaciones, se utiliza una dosis de 0,3 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal de un agonista de DR5 y una dosis de al menos 1 mg/kg, por ejemplo, 1-100 mg/kg de peso corporal de un antagonista de PD-1.

#### VIII. Resultados

55 Los pacientes, por ejemplo, seres humanos, tratados de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento experimentan, preferentemente, mejoría en al menos un signo de cáncer. En una realización, la mejora se mide mediante una reducción de la cantidad y/o tamaño de las lesiones tumorales mensurables. En otra realización, las lesiones pueden medirse en radiografías de tórax o en las películas de TAC o RMN. En otra realización, puede usarse citología o histología para evaluar la respuesta a una terapia.

60 En una realización, el paciente tratado exhibe una reducción en el tamaño de un tumor, reducción del número de lesiones metastásicas a lo largo del tiempo, respuesta completa, respuesta parcial y enfermedad estable. En otra realización, el paciente tratado experimenta retracción del tumor y/o disminución de la velocidad de crecimiento, es decir, Supresión del crecimiento tumoral. En otra realización, la proliferación celular no deseada se reduce o se inhibe. En aún otra realización, se puede producir uno o más de los siguientes: se puede reducir el número de células cancerosas; se puede reducir el tamaño del tumor; la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos puede inhibirse, retrasarse, ralentizarse o detenerse; la metástasis tumoral puede ralentizarse o inhibirse;

el crecimiento tumoral puede inhibirse; la recurrencia del tumor puede prevenirse o retrasarse; uno o más de los síntomas asociados con el cáncer pueden aliviarse en cierta medida.

En otra realización, los métodos de tratamiento producen una tasa de beneficio clínico comparable (BCC = RC (respuesta completa), RP (respuesta parcial) o EE (enfermedad estable)  $\geq$  6 meses) mejor que la alcanzada por un agonista de PD-1 (por ejemplo, anticuerpo) o agonista de DR5 (por ejemplo, anticuerpo) solo. En otras realizaciones, la mejora de la tasa de beneficio clínico es de aproximadamente 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o más, por ejemplo, en comparación con el tratamiento con un antagonista de PD-1 o un agonista de DR5 solo o con respecto al crecimiento del tumor el primer día de tratamiento o inmediatamente antes del inicio del tratamiento.

En otra realización, la administración de un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5 da por resultado una reducción de al menos tres veces (por ejemplo, una reducción de 3,5 veces) el volumen del tumor, por ejemplo, en relación con el tratamiento con el antagonista de PD-1 o el agonista de DR5 solo o con respecto al crecimiento del tumor el primer día de tratamiento o inmediatamente antes del inicio del tratamiento.

En una realización adicional, la administración de un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5 da por resultado una inhibición del crecimiento tumoral de al menos un 80%, por ejemplo, en relación con el tratamiento con el antagonista de PD-1 o el agonista de DR5 solo o con respecto al crecimiento del tumor el primer día de tratamiento o inmediatamente antes del inicio del tratamiento.

En determinadas realizaciones, la administración de un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5 reduce la masa tumoral al menos un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90%, 95%, 99 % con respecto a la masa tumoral antes del inicio del tratamiento o el primer día de tratamiento. En alguna realización, la masa tumoral ya no es detectable después del tratamiento como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, un sujeto está en remisión parcial o completa.

#### IX. Kits y formas de dosificación unitarias

En el presente documento también se proporcionan kits que incluyen una composición farmacéutica que contiene (a) un antagonista de PD-1 y (b) un agonista de DR5 y un portador farmacéuticamente aceptable, en una cantidad terapéuticamente eficaz adaptada para su uso en los métodos precedentes. El antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, 5C4). El agonista de DR5 es un anticuerpo anti- DR5. Los kits opcionalmente también pueden incluir instrucciones, por ejemplo, que comprenden programas de administración, para permitir que un médico practicante (por ejemplo, un médico, enfermera o paciente) administre la composición contenida en el mismo a un paciente que tiene cáncer. El kit también puede incluir una jeringa.

Opcionalmente, los kits incluyen múltiples envases de las composiciones farmacéuticas de dosis única que contienen cada una cantidad eficaz del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 para una administración única de acuerdo con los métodos proporcionados anteriormente. También pueden incluirse en los kits instrumentos o dispositivos necesarios para administrar la(s) composición(es) farmacéutica(s). Por ejemplo, un kit puede proporcionar una o más jeringas precargadas que contienen una cantidad del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5.

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

(a) una dosis de un antagonista de PD-1;

(b) una dosis de un agonista de DR5; e

(c) instrucciones para usar el antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-32. El agonista de DR5 es un anticuerpo anti- DR5. El antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1. En una realización en particular, el antagonista de PD-1 es 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 la SEQ ID NO: 13, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 15.

Los ejemplos siguientes son simplemente ilustrativos.

#### **Ejemplos**

##### **Ejemplo 1**

##### 1. Materiales y métodos

##### Animales

En los estudios se utilizaron ratones C57/BL6 hembra de diez a once semanas de edad (Harlan). Los ratones recibieron comida y agua *ad libitum* y se mantuvieron en un ambiente controlado según las regulaciones internacionales de la Asociación para la Evaluación y Acreditación de Laboratorio de Cuidado de Animales (AAALAC). Todos los estudios en animales han sido aprobados por el comité de ética correspondiente y, por lo tanto, se han realizado de conformidad con las normas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki de 1964 y sus enmiendas posteriores.

#### Anticuerpos

El clon 4H2 de mAb anti-PD-1 de ratón (mAb anti-mPD-1), isotipo IgG1 de ratón lo produjo y purificó Bristol-Myers Squibb (Biologics Discovery, CA). El mAb anti-ratón agonista DR5, el clon MD5-1, isotipo IgG de hámster, se adquirió en BioCell (West Lebanon, NH). Se certificó que ambos anticuerpos tenían <0,5 UE/mg de endotoxina, pureza > 95 % y <5 % de especies de alto peso molecular. Las soluciones madre del mAb anti-mPD-1 y el anticuerpo anti-mDR5 se mantuvieron a 4 °C antes de su uso. Se prepararon soluciones de dosificación de mAb anti-mPD-1 y mAb anti-mDR5 en solución salina tamponada con fosfato estéril (pH 7,0) y se mantuvieron a 4 °C.

El mAb anti-mPD-1 se administró por vía intraperitoneal a su dosis óptima de 10 mg/kg; mAb anti-DR5 a 5 mg/kg.

#### Modelo de tumor

La línea tumoral de carcinoma de colon MC38 usada en este estudio se mantuvo *in vitro*. Se implantaron suspensiones celulares en el espacio subcutáneo del flanco de ratones de ratones C57/BL6 hembra (2,0 x10<sup>6</sup> células MC-38 en 0,2 ml de solución salina equilibrada de Hanks).

El tamaño del tumor y los pesos corporales se midieron dos veces por semana. El tamaño del tumor (medido en mm<sup>3</sup>) se calculó multiplicando la longitud del tumor por el cuadrado de la anchura del tumor dividido por 2. Los tratamientos se iniciaron cuando los tumores subcutáneos alcanzaron una mediana del tamaño de 200 mm<sup>3</sup> (modelo establecido). La actividad antitumoral, definida como el porcentaje de inhibición del crecimiento tumoral, se calculó con la fórmula % de inhibición del crecimiento tumoral (% de TGI)= 100-[(Tt/To)/(Ct/Co)]/100-(Ct/Co), en la que Tt = mediana del tamaño del tumor del grupo tratado al final del tratamiento, To = mediana del tamaño del tumor del grupo tratado al inicio del tratamiento, Ct = mediana del tamaño tumoral del grupo al final del tratamiento y Co = mediana del tamaño del tumor al principio del tratamiento (véase la Tabla 3). Las regresiones completas se definieron como ausencia de masa tumoral mensurable durante al menos 2 tiempos de duplicación del volumen tumoral.

El criterio de valoración de respuesta tumoral se expresó como el retraso de crecimiento tumoral (valor T-C), calculado como la diferencia en tiempo (días) entre los grupos tratado (T) y control (C) para que el tumor alcance un tamaño objetivo predeterminado. Se consideró un resultado activo un retraso en el alcance del tamaño objetivo por los grupos tratados de > 1 veces el tiempo de duplicación del volumen tumoral. La sinergia terapéutica se definió como un efecto antitumoral en el que la combinación de agentes demostró una superioridad significativa (p <0,05) con relación a la actividad mostrada por cada agente solo.

Se evaluó el efecto antitumoral de una dosis única de mAb anti-DR5 de ratón en combinación con un mAb anti-PD-1 administrado en diversos esquemas de dosis en ratones portadores de tumor que MC-38 (colon murino). Seis días después del implante del tumor, los ratones se clasificaron en ocho grupos de 7 ratones con un volumen tumoral medio de ~ 200 mm<sup>3</sup>. Los anticuerpos se administraron de acuerdo con los calendarios de dosificación descritos en la Tabla 1.

**Tabla 1: Calendario de dosificación**

Grupo de tratamiento	n.º de ratones
1: Control	7
2: Control + mAb anti-PD-1; 200 ug/ratón; C4DX3 dosificación iniciada día 6	7
3: Control + mAb anti-PD-1; 200 ug/ratón; C4DX3 dosificación iniciada día 8	7
4: Control + mAb anti-PD-1; 200 ug/ratón; C4DX3 dosificación iniciada día 9	7
5: mAb anti-DR5; 100 ug/ratón; CD + Dosificación de control iniciada el día 8	7
6: mAb anti-DR5; 100 ug/ratón administrados el día 8; CD + mAb anti-PD-1; 200 ug/ratón; Q4Dx3 administrados el día 6	7
7: mAb anti-DR5 100 ug/ratón administrados el día 8; CD + mAb anti-PD-1; 200 ug/ratón; Q4Dx3 administrados el día 8	7
8: mAb anti-DR5 100 ug/ratón administrados el día 8; CD + mAb anti-PD-1; 200 ug/ratón; Q4Dx3 administrados el día 9	7
QD: Una dosis administrada solo un día.	
Q4Dx3: Una dosis administrada cada cuatro días para un total de 3 dosis.	

50

La combinación del mAb de DR5 y el mAb de PD-1 se analizó de acuerdo con los tres calendarios expuestos en la Tabla 2.

**Tabla 2: Calendarios de administración**

N.º de grupo:	Calendario de administración
Grupo 6	El mAb de DR5 se administró 2 días después de la terapia con mAb de PD-1.
Grupo 7	El mAb de DR5 y el mAb de PD-1 se administraron el mismo día.
Grupo 8	El mAb de DR5 se administró 1 día antes de la terapia con el mAb de PD-1.

5 Se planteó la hipótesis de que dado que el mAb de PD-1 induce IFN-gamma, que en los tumores regula por aumento la expresión de DR5 en células tumorales, podría ser ventajoso administrar el mAb de DR5 después de la administración de la terapia con el mAb de PD-1 (Grupo 6). De manera alternativa, se planteó la hipótesis del mAb de DR5 induce la muerte de células tumorales, lo que a su vez dará lugar a respuestas inmunitarias antitumorales y, posteriormente, el mAb PD-1 expandirá la inmunidad antitumoral inducida. Para comprobar esta hipótesis, se administró mAb de DR5 antes del tratamiento con el mAb de PD-1 (Grupo 8).

**2. Resultados**

15 Tal como se muestra en la Tabla 3, se consiguió al menos un 80 % de inhibición del crecimiento tumoral en ratones tratados con una combinación tanto del mAb de DR5 como del mAb de PD1.

**Tabla 3: Respuestas tumorales**

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Calendario (días después del implante)	% de TGI	% Regresiones completas (n.º de ratones totales)
mAb anti-PD-1	10	Días 6, 10, 14	31	0 (0/7)
mAb anti-PD-1	10	Días 8, 12, 16	14	0 (0/7)
mAb anti-PD-1	10	Días 9, 13, 17	-8	0 (0/7)
mAb anti-DR5	5	Día 8	-4	0 (0/7)
mAb anti-PD-1 + mAb anti-DR5	10 5	Días 6, 10, 14 Día 8	96	43 (3/7)
mAb anti-PD-1 + mAb anti-DR5	10 5	Días 8, 12, 16 Día 8	82	14 (1/7)
mAb anti-PD-1 + mAb anti-DR5	10 5	Días 9, 13, 17 Día 8	87	43 (3/7)

20 Además, tal como se muestra en la figura 1, el volumen tumoral medio (medido en mm<sup>3</sup>) en ratones tratados con una combinación del mAb de DR5 y el mAb de PD-1 se redujo significativamente, en comparación con los ratones tratados con un control o cualquiera de los agentes solos. Específicamente, se produjo una reducción de aproximadamente 3,5 veces (por ejemplo, una reducción de al menos 3 veces) en el volumen tumoral en ratones tratados con el mAb de DR5 y el mAb de PD-1, en comparación con los ratones tratados con un control o cualquiera de los agentes solos. El volumen tumoral en ratones individuales se muestra en la Figura 2.

30 En resumen, la combinación del mAb DE DR5 y el mAb DE PD-1 da como resultado una actividad aumentada en comparación con la actividad provocada por agentes individuales solos, independientemente del calendario utilizado. Esta sinergia fue estadísticamente significativa (p <0,05, Wilcoxon). De los 3 calendarios de administración probados, se observó una tendencia a una mejor actividad en los grupos que se trataron primero con anti-mDR5 o con anti-mPD-1. Como se muestra en la figura 3, la terapia de combinación fue bien tolerada (sin pérdida significativa de peso corporal). En estudios previos, se observó una pérdida significativa de peso corporal (> 20 %) con dosis múltiples del mAb de DR5 solo o en combinación.

35 Por lo tanto, los resultados de este estudio demuestran que un régimen de combinación que incluye una sola dosis de mAb anti-mDR5 y múltiples dosis de mAb PD-1 es bien tolerado y da lugar a una marcada actividad antitumoral.

**SUMARIO DEL LISTADO DE SECUENCIAS**

SEQ ID NO:	SECUENCIA
1	Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743) QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKCTSGDTFSTYAI SWVRQAPGQGLEWMGGI I PIFGKAHYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFV S GSPFGMDVWVGQGTITVTVSS

ES 2 644 022 T3

2	<p>Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena pesada (VH) de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>cag gtc cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg tcc  tgc gtg aag gtc tcc tgc aag act tct gga gac acc ttc agc acc tat  gct atc agc tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg  gga ggg atc atc cct ata ttt ggt aaa gca cac tac gca cag aag ttc  cag ggc aga gtc acg att acc gcg gac gaa tcc acg agc aca gcc tac  atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat ttt tgt  gcg aga aag ttt cac ttt gtt tgc ggg agc ccc ttc ggt atg gac gtc  tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc</p>
3	<p>Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL) de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY  DASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFG  QGTKVEIK</p>
4	<p>Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (VL) de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>gaa att gtg ttg aca cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg  gaa aga gcc acc ctg tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc tac  tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctg ctg 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 ctg acc atc agc agc cta gag cct  gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag cgt agc aac tgg ccg acg  ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa</p>
5	<p>Secuencia de aminoácidos de la CDR1 de la cadena pesada de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>TYAIS</p>
6	<p>Secuencia de aminoácidos de la CDR2 de la cadena pesada de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>GIPIFGKAHYAQKFQ</p>
7	<p>Secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la cadena pesada de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>KFHVSGSPFGMDV</p>
8	<p>Secuencia de aminoácidos de la CDR1 de la cadena ligera de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>RASQSVSSYLA</p>
9	<p>Secuencia de aminoácidos de la CDR2 de la cadena ligera de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>DASNRAT</p>
10	<p>Secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la cadena ligera de mAb anti-PD-L1 (12A4; 12A4 en el documento WO 2007/005874 y la patente de Estados Unidos n.º 7.943.743)</p> <p>QQRSNWPT</p>
11	<p>Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (región variable subrayada; región constante en negrita)</p> <p><u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGL</u>  <u>EWVAVIWIYDGSKRYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDT</u>  <u>AVYYCATNDYWGQGLTVVSS</u><b>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA</b>  <b>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT</b>  <b>VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG</b>  <b>GPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGV</b>  <b>EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG</b>  <b>LPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS</b>  <b>DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV</b>  <b>FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGLK</b></p>

ES 2 644 022 T3

12	<p>Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (región variable subrayada; región constante en negrita)</p> <p><u>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI</u>  <u>YDASNRRATGIPARFSGSGSGTDFTLT</u>ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPR</p>
	<p><u>TFGQGTKVEIK</u><b>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA</b>  <b>KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS</b><b>TYLSLSSTLTLSKADYEKHK</b>  <b>VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</b></p>
13	<p>Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) de mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:4 del documento WO 2006/121168)</p> <p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAV          IWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATND          DYWGQGTLLVTSS</p>
14	<p>Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena pesada (VH) de mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:60 del documento WO 2006/121168)</p> <p>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>
15	<p>Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL) de mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:11 del documento WO 2006/121168)</p> <p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD          ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQ          GTKVEIK</p>
16	<p>Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (VL) de mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:67 del documento WO 2006/121168)</p> <p>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          gtt agt agt tac tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc          cag</p>
	<p>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 gtt tat tac tgt cag cag agt agc aac tgg cct cgg          acg ttc          ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa</p>
17	<p>Secuencia de aminoácidos de CDR1 de la cadena pesada del mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:18 del documento WO 2006/121168)</p> <p>NSGMH</p>

ES 2 644 022 T3

18	Secuencia de aminoácidos de CDR2 de la cadena pesada del mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:25 del documento WO 2006/121168) VIWYDGSKRYADSVKG
19	Secuencia de aminoácidos de CDR3 de la cadena pesada del mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:32 del documento WO 2006/121168) NDDY
20	Secuencia de aminoácidos de CDR1 de la cadena ligera del mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:39 del documento WO 2006/121168) RASQSVSSYLA
21	Secuencia de aminoácidos de CDR2 de la cadena ligera del mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:46 del documento WO 2006/121168) DASNRAT
22	Secuencia de aminoácidos de CDR3 de la cadena ligera del mAb anti-PD-1 (5C4 en el documento WO 2006/121168) (SEQ ID NO:53 del documento WO 2006/121168) QQSSNWPRT
23	Secuencia completa de PD-1 (n.º de acceso en GenBank: U64863) agtttccctt ccgctcacct ccgctgagc agtggagaag gcggcactct ggtggggctg ctccaggcat gcagatcca caggcgcct ggccagtcgt ctgggcggtg ctacaactgg gctggcggcc aggatggttc ttagactccc cagacaggcc ctggaacccc cccaccttct tcccagcct gctcgtggtg

ES 2 644 022 T3

	<p>accgaagggg acaacgccac cttcacctgc agcttctcca acacatcggg  gagcttcgtg ctaaactggt accgcatgag ccccagcaac cagacggaca  agctggccgc cttccccgag gaccgcagcc agcccggcca ggactgccgc  ttccgtgtca cacaactgcc caacgggegt gacttccaca tgagcgtggt  cagggccccg cgcaatgaca gcggcaccta cctctgtggg gccatctccc  tggcccccaa ggcgcagatc aaagagagcc tgcgggcaga gctcagggtg  acagagagaa gggcagaagt gccacagcc caccacagcc cctcaccag  gccagccggc cagttccaaa ccctggtggt tgggtgctgtg ggccggcctgc  tgggacagcct ggtgctgcta gtctgggtcc tggccgtcat ctgctcccgg  gccgcacgag ggacaatagg agccaggcgc accggccagc ccctgaagga  ggaccctca gccgtgctg tgttctctgt ggactatggg gagctggatt  tccagtggcg agagaagacc ccggagcccc ccgtgccctg tgtccctgag  cagacggagt atgccacat tgtctttcct agcggaatgg gcacctcatc  ccccgcccgc aggggctcag ccgacggccc tcggagtgcc cagccactga  ggcctgagga tggacactgc tcttggcccc tetgaccggc ttccctggcc  accagtgttc tgcagaccct ccacatgag cccgggtcag cgcatttct  caggagaagc aggcagggtg caggccattg caggccgtcc aggggctgag  ctgctgggg gcgaccgggg ctccagcctg cacctgcacc aggcacagcc  ccaccacagg actcatgtct caatgccac agtgagccca ggcagcaggt  gtcaccgtcc cctacagggg gggccagatg cagtactgc ttcaggctct  gccagcacag agctgcctgc gtccagctcc ctgaatctct gctgctgctg  ctgctgctgc tgetgctgcc tgcggcccgg ggctgaagge gccgtggccc  tgcctgacgc cccggagcct cctgcctgaa cttgggggct ggttgagat  ggccttgag cagccaaggt gccctggca gtggcatccc gaaacgcct  ggacgcaggg cccaagactg ggcacaggag tgggaggtac atggggctgg  ggactccca ggagttatct gctccctgca ggctagaga agtttcaggg  aaggtcagaa gagctcctgg ctgtggtggg cagggcagga aaccctccc  acctttacac atgcccagge agcacctcag gccctttgtg gggcagggaa  gctgaggcag taagcgggca ggcagagctg gaggcctttc aggccagcca  gactctgge ctctgcccgc cgcattccac cccagcccct cacaccactc  gggagagggg catcctacgg tccaaggtc aggagggcag ggctggggtt  gactcaggcc cctcccagct gtggccacct ggggtgttggg agggcagaag  tgcaggcacc tagggcccc catgtgcca ccctgggagc tctccttga  accattcct gaaattattt aaaggggttg gccgggctcc caccagggcc  tgggtgggaa ggtacaggcg tcccccggg gectagtacc cccgcgtggc  ctatccactc ctacatcca cacactgcac cccactcct ggggcagggc  caccagcatc caggcggcca gcaggcact gagtggctgg gacaagggat  ccccctccc tgtggttcta ttatattata attataatta aatatgagag  catgct</p>
--	---

24	<p>Secuencia de aminoácidos de PD-L1 humano - precursor de la isoforma a (n.º de acceso en GenBank NP_054862.1)  MRIFAVFIFM TYWHLLNAFT VTPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL</p>
----	--



	<p>AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS          YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG          ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPVTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS          DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTTLRIN          TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPPELP LAHPPNERTH          LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET</p>
25	<p>Secuencia de aminoácidos de PD-L1 humano - precursor de la isoforma b (n.º de acceso en GenBank NP_001254635.1)          MRIFAVFIFM TYWHLLNAPY NKINQRILVV DPVTSEHELT CQAEGYPKAE          VIWTSSDHQV LSGKTTTTNS KREEKLFNVT          STLRINTTTN EIFYCTFRRL DPEENHTAEL VIPELPLAHP          PNERTHLVIL GAILLCLGVA LTFIFRLRKG RMMDVKKCGI QDTNSKKQSD          THLEET</p>
26	<p>Secuencia de aminoácidos de DR5 humano (n.º de acceso en GenBank AAC01565.1)          MEQRGQNAPA ASGARKRHGP GPREARGARP GLRVPKTLVL          VVAAVLLLLVS AESALITQQD LAPQQRVAPQ QKRSSPSEGL          CPPGHHISED GRDCISCKYG QDYSTHWNDL LFCLRCTRCD          SGEVELSPCT TTRNTVCQCE EGTFREEDSP EMCRKCRTGC          PRGMVKVGDC TPWSDIECVH KESGIIIGVT VAAVVLIVAV          FVCKSLLWKK VLPYLKIGCS GGGGDPERVD RSSQRPGAED          NVLNEIVSIL QPTQVPEQEM EVQEPAEPTG VNMLSPGESE          HLLEPAEAER SQRRRLVPA NEGDPTECLR QCFDDFADLV          PFDSWEPLMR KLGLMDNEIK VAKAEAAGHR DTLYTMLIKW          VNKTGRDASV HTLLDALETL GERLAKQKIE DHLLSSGKFM          YLEGNADSAM S</p>

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> COMBINACIÓN DE UN AGONISTA DE DR5 Y UN ANTAGONISTA DE ANTI-PD-1 Y MÉTODOS DE USO

5

<130> MXI-529PC

<140>

<141>

10

<150> 61/783.184

<151> 14-03-2013

<160> 27

15

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 123

<212> PRT

20

ES 2 644 022 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser	1	5	10	15
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Asp	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	20	25	30	
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	35	40	45	
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Lys	Ala	His	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	50	55	60	
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Lys	Phe	His	Phe	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Phe	Gly	Met	Asp	Val	100	105	110	
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	115	120							

5

<210> 2

<211> 366

<212> ADN

10 <213> *Homo sapiens*

<400> 2

caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaaga	cttctggaga	caccttcagc	acctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tatttggtaa	agcacactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggaoc	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	atTTTTgtgc	gagaaagttt	300
cactttgttt	cggggagccc	cttcggtatg	gacgtctggg	gccaagggac	cacgggtcacc	360
gtctcc						366

15

<210> 3

<211> 106

<212> PRT

20 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

ES 2 644 022 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Thr  
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 4  
 <211> 318  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 4

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagatdddg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggccgacgtt cggccaaggg 300

10

accaaggtgg aaatcaaa 318

<210> 5  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 5

Thr Tyr Ala Ile Ser  
 1 5

20

<210> 6  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25

<400> 6

ES 2 644 022 T3

**Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Lys Ala His Tyr Ala Gln Lys Phe Gln**  
**1 5 10 15**

5 <210> 7  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 7

**Lys Phe His Phe Val Ser Gly Ser Pro Phe Gly Met Asp Val**  
**1 5 10**

10 <210> 8  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15 <400> 8

**Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala**  
**1 5 10**

20 <210> 9  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25 <400> 9

**Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr**  
**1 5**

30 <210> 10  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 10

**Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Thr**  
**1 5**

40 <210> 11  
 <211> 440  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 11

ES 2 644 022 T3

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser  
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
100 105 110

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser  
115 120 125

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
145 150 155 160

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys  
180 185 190

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
195 200 205

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
210 215 220

ES 2 644 022 T3

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 245 250 255

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val  
 260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 275 280 285

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly  
 305 310 315 320

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr  
 340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 385 390 395 400

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe  
 405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440

<210> 12  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 12

ES 2 644 022 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 13  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 13





ES 2 644 022 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 16  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 16

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagt agttacttag cctggtacca acagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag agtagcaact ggcctcggac gttcggccaa 300  
 10 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

15 <210> 17  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 17

Asn Ser Gly Met His  
 1 5

20 <210> 18  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 18

ES 2 644 022 T3

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

**Gly**

5 <210> 19  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 19

Asn Asp Asp Tyr  
 1

10  
 <210> 20  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 20

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala  
 1 5 10

20  
 <210>21  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 21

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
 1 5

30 <210> 22  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 22

Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg Thr  
 1 5

40 <210> 23  
 <211> 2106  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45 <400> 23

ES 2 644 022 T3

agtttcoett	cogctcacct	ccgectgagc	agtggagaag	gcggcactct	ggtggggctg	60
ctccaggcat	gcagatccca	caggcgccct	ggccagtcgt	ctgggcggtg	ctacaactgg	120
gctggcggcc	aggatggttc	ttagactccc	cagacaggcc	ctggaacccc	cccacctct	180
tcccagccct	gctcgtggtg	accgaagggg	acaacgccac	cttcacctgc	agcttctcca	240
acacatcgga	gagcttcgtg	ctaaactggt	accgcatgag	cccagcaac	cagacggaca	300
agctggccgc	cttccccgag	gaccgcagcc	agcccggcca	ggactgccgc	ttccgtgtca	360
cacaactgcc	caacgggcgt	gacttcaca	tgagcgtggt	cagggcccgg	cgcaatgaca	420
gcggcaccta	cctctgtggg	gccatctccc	tggcccccaa	ggcgcagatc	aaagagagcc	480

ES 2 644 022 T3

tgcgggcaga gctcaggggtg acagagagaa gggcagaagt gccacagcc cccccagcc 540  
 cctcaccag gccagccggc cagttccaaa ccctgggtgt tgggtgtgtg ggcggcctgc 600  
 tgggcagcct ggtgctgcta gtctgggtcc tggccgtcat ctgctcccgg gccgcacgag 660  
 ggacaatagg agccagggcg accggccagc ccctgaagga ggacccctca gcogtgcctg 720  
 tgttctctgt ggactatggg gagctggatt tccagtggcg agagaagacc ccggagcccc 780  
 cogtgcctg tgtccctgag cagacggagt atgccaccat tgtctttcct agcggaatgg 840  
 gcacctcacc ccccgcccg cagggtcag ccgacggccc tggagtgcc cagccactga 900  
 ggctgagga tggacactgc tcttggcccc tctgaccggc ttcttggcc accagtgttc 960  
 tgcagaccct ccaccatgag cccgggtcag cgcatttct caggagaagc aggcaggggtg 1020  
 caggccattg caggccgtcc aggggtgag ctgcctgggg gcgacogggg ctccagcctg 1080  
 cacctgcacc aggcacagcc ccaccacagg actcatgtct caatgccac agtgagccca 1140  
 ggacagcagt gtcaccgtcc cctacagggg gggccagatg cagtcaactgc ttcaggtcct 1200  
 gccagcacag agctgcctgc gtccagctcc ctgaatctct gctgctgctg ctgctgctgc 1260  
 tgctgctgcc tgcggcccgg ggctgaagge gccgtggccc tgctgaogc cccggagcct 1320  
 cctgcctgaa cttgggggct ggttggagat ggccttggag cagccaaggt gccctggca 1380  
 gtggcatccc gaaacgccct ggacgcaggg cccaagactg ggcacaggag tgggaggtac 1440  
 atggggctgg ggactcccca ggagttatct gctccctgca ggccatagaga agtttcaggg 1500  
 aaggtcagaa gagctcctgg ctgtggtggg cagggcagga aaccctccc acctttacac 1560  
 atgccaggc agcacctcag gccctttgtg gggcagggaa gctgaggcag taagcgggca 1620  
 ggacagcctg gaggcctttc aggccagcca gcaactctggc ctctgcccgc cgcattccac 1680  
 cccagcccct cacaccactc gggagagggg catcctacgg tcccaaggtc aggagggcag 1740  
 ggctgggggt gactcagggc cctcccagct gtggccacct ggggtgtggg agggcagaag 1800  
 tgcaggcacc tagggccccc catgtgcca ccctgggagc tctccttggg acccattcct 1860  
 gaaattatth aaaggggttg gccgggctcc caccagggcc tgggtgggaa ggtacagggc 1920  
 ttccccggg gcctagtacc cccgctggc ctatccactc ctccatcca cacactgcac 1980  
 cccactcct ggggcagggc caccagcacc caggcggcca gcaggacct gagtggctgg 2040  
 gacaagggat ccccttccc tgtggttcta ttatattata attataatta aatatgagag 2100  
 catgct 2106

<210> 24  
 <211> 290  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 24

ES 2 644 022 T3

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu  
1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr  
20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu  
35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile  
50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser  
65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn  
85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr  
100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val  
115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val  
130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr  
145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser  
165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn  
180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr  
195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu  
210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His  
225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr  
245 250 255

ES 2 644 022 T3

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys  
 260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu  
 275 280 285

Glu Thr  
 290

<210> 25  
 <211> 176  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 25

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu  
 1 5 10 15

Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro  
 20 25 30

Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys  
 35 40 45

Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys  
 50 55 60

Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr  
 65 70 75 80

Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr  
 85 90 95

Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile  
 100 105 110

Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His Leu Val  
 115 120 125

Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr Phe Ile  
 130 135 140

Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys Gly Ile  
 145 150 155 160

Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu Glu Thr  
 165 170 175

10

<210> 26  
 <211> 411

ES 2 644 022 T3

<212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 26

5

```

Met Glu Gln Arg Gly Gln Asn Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala Arg Lys
 1          5          10          15

Arg His Gly Pro Gly Pro Arg Glu Ala Arg Gly Ala Arg Pro Gly Leu
          20          25          30

Arg Val Pro Lys Thr Leu Val Leu Val Val Ala Ala Val Leu Leu Leu
          35          40          45

Val Ser Ala Glu Ser Ala Leu Ile Thr Gln Gln Asp Leu Ala Pro Gln
          50          55          60

Gln Arg Val Ala Pro Gln Gln Lys Arg Ser Ser Pro Ser Glu Gly Leu
65          70          75          80

Cys Pro Pro Gly His His Ile Ser Glu Asp Gly Arg Asp Cys Ile Ser
          85          90          95

Cys Lys Tyr Gly Gln Asp Tyr Ser Thr His Trp Asn Asp Leu Leu Phe
          100          105          110

Cys Leu Arg Cys Thr Arg Cys Asp Ser Gly Glu Val Glu Leu Ser Pro
          115          120          125

Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Val Cys Gln Cys Glu Glu Gly Thr Phe
130          135          140

Arg Glu Glu Asp Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys Arg Thr Gly Cys
145          150          155          160

Pro Arg Gly Met Val Lys Val Gly Asp Cys Thr Pro Trp Ser Asp Ile
          165          170          175

Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Ile Ile Ile Gly Val Thr Val Ala
          180          185          190

Ala Val Val Leu Ile Val Ala Val Phe Val Cys Lys Ser Leu Leu Trp
195          200          205

Lys Lys Val Leu Pro Tyr Leu Lys Gly Ile Cys Ser Gly Gly Gly Gly
210          215          220

Asp Pro Glu Arg Val Asp Arg Ser Ser Gln Arg Pro Gly Ala Glu Asp
    
```



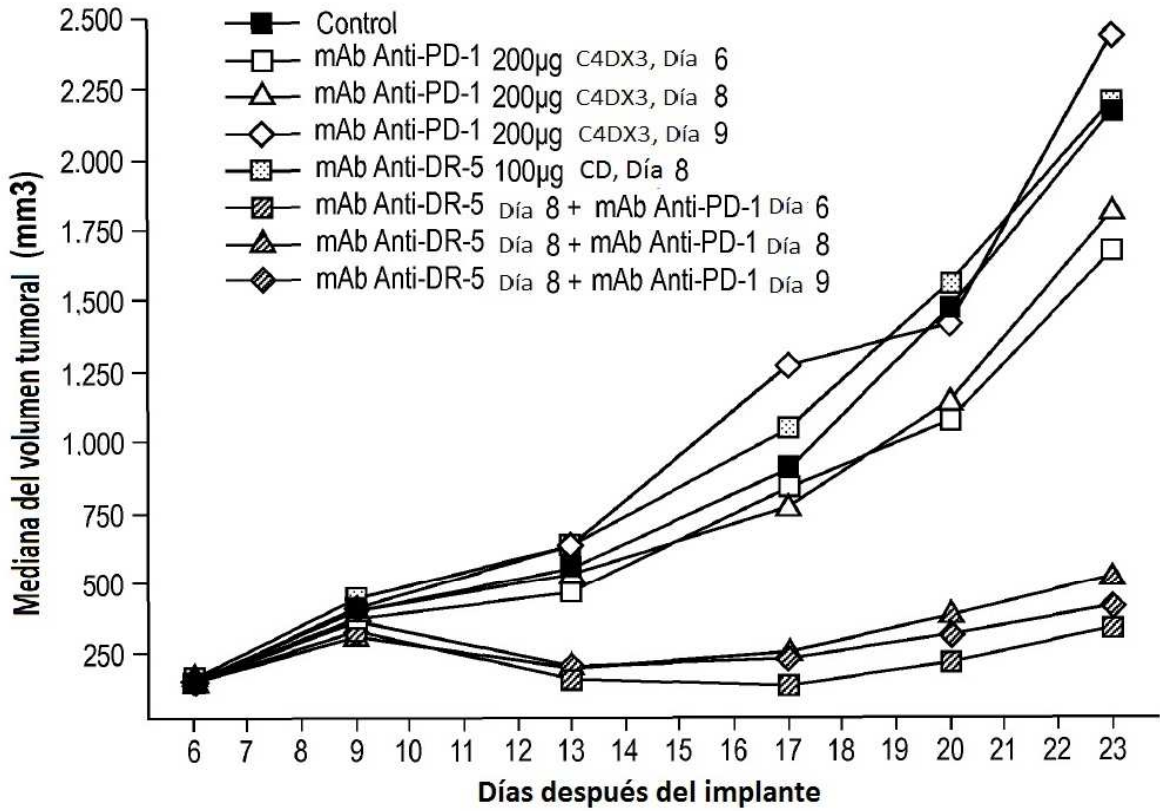


## REIVINDICACIONES

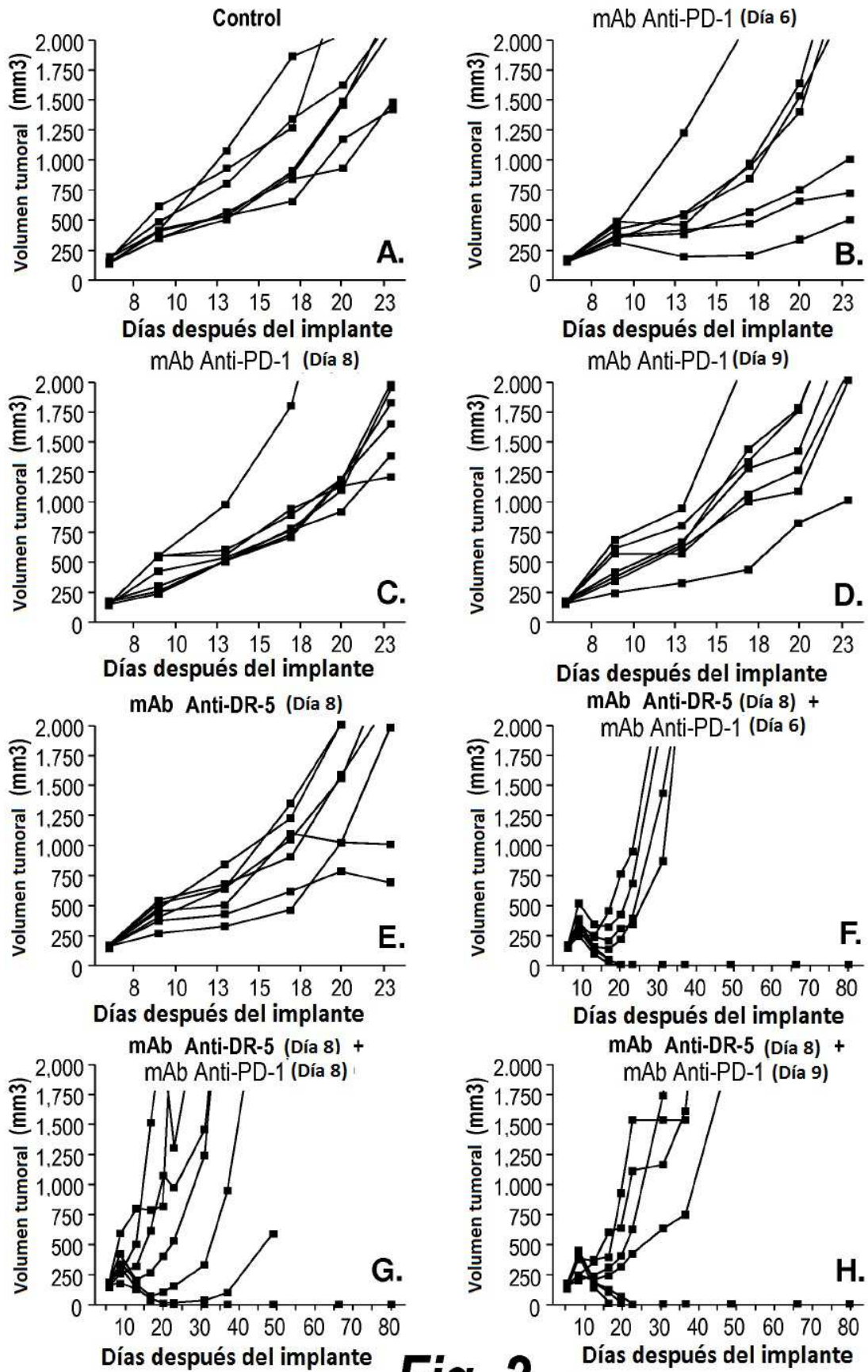
1. Un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5 para su uso en un método de tratamiento de cáncer, en donde el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y el agonista de DR5 es un anticuerpo anti-DR5 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.
2. Un antagonista de PD-1 para su uso en un método de tratamiento de cáncer, en donde el método comprende además la administración de un agonista de DR5, en donde el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y el agonista de DR5 es un anticuerpo anti-DR5 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.
3. Un agonista de DR5 para su uso en un método de tratamiento de cáncer, en donde el método comprende además la administración de un antagonista de PD-1, en donde el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y el agonista de DR5 es un anticuerpo anti-DR5 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.
4. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el agonista de DR5 se selecciona de lexatumumab, tigatuzumab, conatumumab, drozitumab, HGSTR2J/KMTRS y LBY-135.
5. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el antagonista de PD-1 comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 13, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 en una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 15.
6. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el antagonista de PD-1 comprende:
- (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 17;
  - (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 18;
  - (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 19;
  - (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 20;
  - (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 21; y
  - (f) una CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 22.
7. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el antagonista de PD-1 comprende las regiones variables de las cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 15, respectivamente.
8. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el antagonista de PD-1 comprende las cadenas pesada y ligera que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente.
9. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la administración del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 reduce la masa tumoral al menos un 50 %.
10. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la administración del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5, reduce el tamaño del tumor al menos un 80 %.
11. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la administración del antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 da por resultado una inhibición del crecimiento tumoral de al menos un 80 %.
12. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el tratamiento produce al menos un efecto terapéutico seleccionado de una reducción del tamaño de un tumor, una reducción del número de lesiones metastásicas a lo largo del tiempo, respuesta completa, respuesta parcial y enfermedad estable.
13. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 se formulan para la administración intravenosa.
14. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el método comprende la administración del antagonista de PD-1 antes de la administración del agonista de DR5.

15. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el método comprende la administración del agonista de DR5 antes de la administración del antagonista de PD-1.
- 5 16. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el método comprende la administración del agonista de DR5 y el antagonista de PD-1 de forma simultánea.
- 10 17. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde el cáncer es un cáncer seleccionado de entre leucemia, linfoma, blastoma, carcinoma y sarcoma.
- 15 18. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde el cáncer se selecciona de entre leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda positiva para el cromosoma Filadelfia (LLA Ph +), carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal, cáncer de ovarios, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer de páncreas, glioblastoma multiforme, cáncer de cuello uterino, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon y cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, linfoma nasal de células T, mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda (LMA) y leucemia linfocítica crónica (LLC).
- 20 19. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-18, en donde el método para tratar el cáncer comprende además la administración de un agente terapéutico adicional.
- 25 20. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde el agente terapéutico adicional es una citotoxina o un agente quimioterapéutico.
- 30 21. El antagonista de PD-1 y/o el agonista de DR5 para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en donde el sujeto que se va a tratar es un ser humano.
- 35 22. Una composición que comprende un antagonista de PD-1 y un agonista de DR5, en la que el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y el agonista de DR5 es un anticuerpo anti-DR5 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.
23. La composición de la reivindicación 22 para su uso en un método de tratamiento del cáncer.
24. Un kit para tratar un cáncer en un sujeto, comprendiendo el kit:
- 40 (a) una dosis de un antagonista de PD-1;  
 (b) una dosis de un agonista de DR5; y  
 (c) instrucciones para usar el antagonista de PD-1 y el agonista de DR5 de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-23,
- 45 en la que el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y el agonista de DR5 es un anticuerpo anti-DR5 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

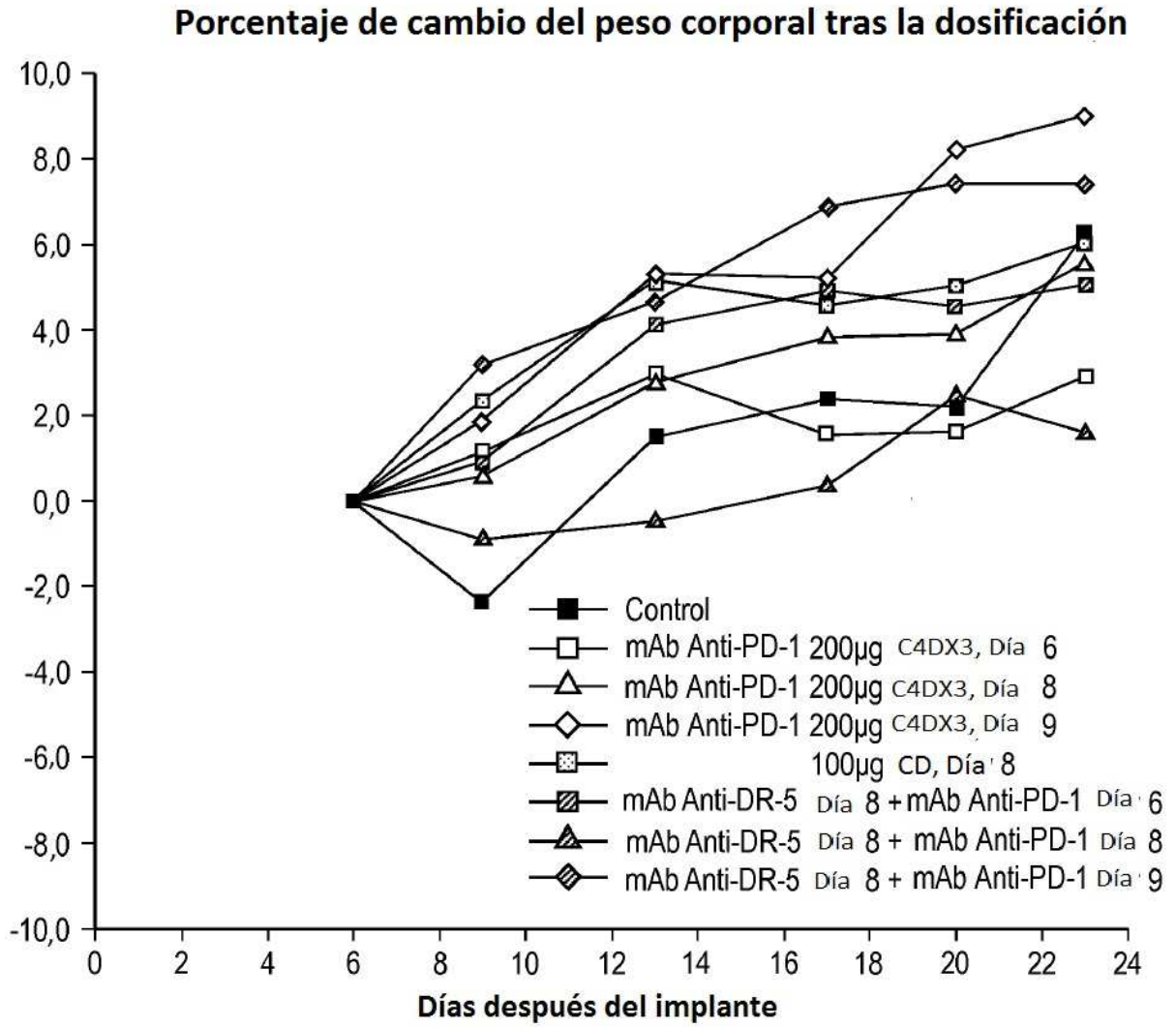
**Mediana del volumen tumoral**



**Fig. 1**



**Fig. 2**



**Fig. 3**