

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 783 026**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61K 39/35** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.02.2015 PCT/US2015/014199**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.08.2015 WO15119923**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.02.2015 E 15703438 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020 EP 3102604**

54 Título: **Combinación de un antagonista de PD-1 y un agonista de 4-1BB para el tratamiento de cáncer**

30 Prioridad:

**04.02.2014 US 201461935748 P**

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

**16.09.2020**

73 Titular/es:

**PFIZER INC. (50.0%)**

**235 East 42nd Street**

**New York, NY 10017, US y**

**MERCK SHARP & DOHME CORP. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**DAVIS, CRAIG, BENNETT;**

**KOEHLER, MARIA, THERESA y**

**YAN, LI**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 783 026 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 antagonista de PD-1 y un agonista de 4-1BB para el tratamiento de cáncer

**Información de secuencia**

5 La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que ha sido enviado electrónicamente en formato ASCII y que se incorpora a la presente memoria en su plenitud a modo de referencia. Dicha copia ASCII, creada el 26 de enero de 2015, tiene el nombre de PCFC-954-WO1\_SL.txt y tiene un tamaño de 44.501 bytes.

**Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a terapias de combinación útiles para el tratamiento de cáncer. En particular, la invención se refiere a una terapia de combinación que comprende un antagonista de una proteína de Muerte Programada 1 (PD-1, del inglés "Programmed Death 1") y un agonista de una proteína 4-1BB.

**Antecedentes de la invención**

La PD-1 es reconocida como un actor importante en la regulación inmune y en el mantenimiento de la tolerancia periférica. La PD-1 está expresada de forma moderada en células T, B y NKT inocentes, y está regulada al alza en la señalización de receptor de célula T/B en linfocitos, monocitos y células mieloides (1).

15 Dos ligandos conocidos para PD-1, PD-L1 (B7-H1) y PD-L2 (B7-DC), son expresados en cánceres humanos originados en diferentes tejidos. En conjuntos grandes de muestras de, p.ej., cáncer de ovario, renal, colorrectal, pancreático, hepático y melanoma, se observó que la expresión de PD-L1 se correlaciona con un mal pronóstico y una supervivencia global reducida independientemente del tratamiento posterior (2-13). De forma similar, se observó  
20 que la expresión de PD-1 en linfocitos que se infiltran en tumores marca las células T disfuncionales en cáncer de mama y melanoma (14-15) y se correlaciona con un mal pronóstico en el cáncer renal (16). Por tanto, se ha propuesto que las células tumorales que expresan PD-L1 interactúan con células T que expresan PD-1 para atenuar la activación de células T y la evasión de la vigilancia inmune, contribuyendo de este modo a una respuesta inmune contra el tumor disminuida.

25 Varios anticuerpos monoclonales que inhiben la interacción entre PD-1 y uno o ambos de PD-L1 y PD-L2 se encuentran en desarrollo clínico para el tratamiento de cáncer. Se ha propuesto que la eficacia de dichos anticuerpos podría verse potenciada si se administran en combinación con otras terapias de cáncer aprobadas o experimentales, p.ej., radiación, cirugía, agentes quimioterapéuticos, terapias dirigidas, agentes que inhiben otras rutas de señalización que están desreguladas en tumores, y otros agentes potenciadores del sistema inmune.

30 La 4-1BB (CD137 y TNFRSF9), que fue identificada por primera vez como un receptor co-estimulante inducible expresado en células T activadas, es una glicoproteína extendida de membrana de la superfamilia de receptor de Factor de Necrosis Tumoral (TNF). El conocimiento actual sobre la 4-1BB indica que la expresión generalmente es dependiente de activación y abarca un amplio subconjunto de células inmunes que incluyen células NK y NKT activadas; células T reguladoras; células dendríticas (DC) que incluyen DC foliculares; mastocitos estimulados, células mieloides diferenciadas, monocitos, neutrófilos, eosinófilos (17), y células B activadas (18). La expresión de 4-1BB  
35 también se ha demostrado en la vasculatura tumoral (19-20) y en el endotelio aterosclerótico (21). El ligando que estimula 4-1BB (4-1BBL) es expresado en células que presentan antígeno activadas (APCs), en células progenitoras mieloides y en células madre hematopoyéticas.

40 La interacción de 4-1BB en células B humanas normales activadas con su ligando en el momento del encuentro con el receptor de célula B estimula la proliferación y potencia la supervivencia (18). Se ha investigado el potencial impacto del encuentro de 4-1BB en linfoma de célula B en dos estudios publicados. La evaluación de varios tipos de muestras NHL primarias humanas indicó que la 4-1BB se expresa predominantemente en células T infiltrantes más que en células de linfoma (22). La adición de agonistas de 4-1BB a cultivos in vitro de células de linfoma B con rituximab y células NK dio como resultado el aumento de la muerte de linfoma (23). Adicionalmente, se llevó a cabo un inmunofenotipado de células B en dos experimentos con PF-05082566 en monos cynomolgus con dosis entre 0,001-  
45 100 mg/kg; en estos experimentos los números de células B sanguíneas se vieron inalterados o se redujeron.

50 La 4-1BB es indetectable en la superficie de células T inocentes, pero la expresión aumenta tras activación. Tras la activación de 4-1BB, TRAF 1 y TRAF 2, que son miembros pro-supervivencia de la familia de factor asociado a TNFR (TRAF), son reclutados a la cola citoplásmica de la 4-1BB, dando como resultado la activación aguas debajo de NFκB y la cascada de quinasa de proteína activada por mitógeno (MAP) que incluye las quinasas MAP Erk, Jnk y p38. La activación de NFκB conduce a la regulación al alza de Bfl-1 y Bcl-XL, los miembros pro-supervivencia de la familia Bcl-2. La proteína pro-apoptótica Bim está regulada a la baja de un modo dependiente de TRAF1 y Erk (24).

55 Los estudios han demostrado que los mAbs agonistas de 4-1BB aumenta la expresión de molécula co-estimulante y potencian de forma destacada las respuestas de linfocitos T citolíticos, dando como resultado la eficacia anti-tumoral en diversos modelos. Los mAbs agonistas de 4-1BB han demostrado ser eficaces en estudios profilácticos y terapéuticos, y tanto modelos tumorales de monoterapia como de terapia de combinación y han establecido respuestas

de memoria de célula T protectoras anti-tumorales duraderas establecidas (25). Los agonistas de 4-1BB también inhiben las reacciones autoinmunes en una variedad de modelos de autoinmunidad (26). Dai et al ("Long-lasting Complete Regression of Established Mouse Tumors by Counteracting Th2 Inflammation", Journal of Immunotherapy, vol. 36, nº 4, 2013-05-01, páginas 248-257) describe la actividad antitumoral sinérgica de anticuerpos anti PD-1, anti 4-1BB y anti CTLA4. Wei et al ("Combinatorial PD-1 Blockade and CD137 Activation Has Therapeutic Efficacy in Murine Cancer Models and Synergizes with Cisplatin", Plos One, vol. 8, nº 12, 2013-12-19, página e84927) describe el tratamiento de tumores sólidos con un agonista anti 4-1BB y un antagonista de PD-1 en un modelo de cáncer de ratón. Duraiswamy et al ("Therapeutic PD-1 Pathway Blockade Augments with Other Modalities of Immunotherapy T-Cell Function to Prevent Immune Decline in Ovarian Cancer", Cancer Research, vol. 73, nº 23, 2013-12-0, páginas 6900-6912) describe el tratamiento de tumores en ratones con un agonista anti 4-1BB y un antagonista de PD-1. Ensayo clínico NCT02179918/2014\_07 01 ("A Phase 1 Study Of The 4-1 BB Agonist PF-05082566 In Combination With The PD-1 Inhibitor MK-3475 In Patients With Advanced Solid Tumors") se centra en el tratamiento de tumores sólidos con un agonista anti 4-1BB y un antagonista de PD-1.

### Sumario de la invención

En la presente memoria se describe una invención que proporciona un medicamento que comprende un antagonista de PD-1 para uso en combinación con un agonista de 4-1BB para el tratamiento de cáncer.

En otra realización adicional, la invención proporciona un medicamento que comprende un agonista de 4-1BB para uso en combinación con un antagonista de PD-1 para el tratamiento de un cáncer.

En la presente memoria se describe el uso de un antagonista de PD-1 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer en un individuo cuando se administra en combinación con un agonista de 4-1BB y el uso de un agonista de 4-1BB en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer en un individuo cuando se administra en combinación con un antagonista de PD-1.

En la presente memoria se describe el uso de un antagonista de PD-1 y un agonista de 4-1BB en la fabricación de medicamentos para el tratamiento de un cáncer en un individuo. Los medicamentos pueden comprender un kit, y el kit también comprende un panfleto que comprende instrucciones para usar el antagonista de PD-1 en combinación con un agonista de 4-1BB para tratar un cáncer en un individuo.

En todos los medicamentos y usos anteriores, el antagonista de PD-1 inhibe la unión de PD-L1 a PD-1, y preferiblemente también inhibe la unión de PD-L2 a PD-1. En algunas realizaciones de los medicamentos y usos anteriores, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a PD-1 o a PD-L1 y que bloquea la unión de PD-L1 a PD-1. En una realización, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, y en donde las cadenas pesada y ligera comprenden las secuencias de aminoácido de la Figura 6 (SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 22).

En todas las realizaciones anteriores de los medicamentos y usos, el agonista de 4-1BB se une al dominio extracelular de 4-1BB y es capaz de actuar de agonista de 4-1BB. En algunas realizaciones de los medicamentos y usos anteriores, el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En la presente memoria se describe que el anticuerpo aislado se une a 4-1BB humana en un epítipo localizado dentro de los residuos de aminoácido 115-156 de la SEQ ID NO: 26. En la presente memoria se describe que el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos H-CDR1 de la SEQ ID NO: 27, la secuencia de aminoácidos H-CDR2 de la SEQ ID NO: 28 y la secuencia de aminoácidos H-CDR3 de la SEQ ID NO: 29. En la presente memoria se describe que el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende la secuencia de aminoácidos L-CDR1 de la SEQ ID NO: 30, la secuencia de aminoácidos L-CDR2 de la SEQ ID NO: 31 y la secuencia de aminoácidos L-CDR3 de la SEQ ID NO: 32.

En la presente memoria se describe que el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada como la establecida en la SEQ ID NO: 33.

En la presente memoria se describe que el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera como la establecida en la SEQ ID NO: 34.

En la presente memoria se describe que el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada como la establecida en la SEQ ID NO: 33, y que además comprende una secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera como la establecida en la SEQ ID NO: 34.

En algunas realizaciones, el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada como la establecida en la SEQ ID NO: 35 y que además comprende una secuencia de aminoácidos de cadena ligera como la establecida en la SEQ ID NO: 36, con la condición de que el residuo de lisina C-terminal de la SEQ ID NO: 35 esté opcionalmente ausente.

En algunas realizaciones de los medicamentos y usos anteriores de la invención, el individuo es un humano y el cáncer es un tumor sólido, y en algunas realizaciones, el tumor sólido es cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de riñón de células claras, cáncer de colon, carcinoma de células escamosas de cabeza/cuello, carcinoma de células escamosas de pulmón, melanoma maligno, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de ovario, 5 cáncer pancreático, cáncer de próstata, cáncer de célula renales, cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) o cáncer de mama triple negativo. En algunas realizaciones, el cáncer es una malignidad de tumor sólido avanzada.

Según los medicamentos y usos anteriores de la invención, el individuo es un humano y el cáncer es una malignidad Heme y en algunas realizaciones, la malignidad Heme es leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML), linfoma de células B grande difuso (DLBCL), DLBCL positivo en EBV, linfoma de células B grande mediastinal primario, linfoma de células B grande rico en células T/histiocitos, linfoma folicular, linfoma de Hodgkin (HL), linfoma de célula de manto (MCL), mieloma múltiple (MM), proteína de leucemia 1 de célula mieloide (Mcl-1), síndrome mielodisplásico (MDS), linfoma no de Hodgkin (NHL), o linfoma linfocítico pequeño (SLL).

Asimismo, en algunas realizaciones de cualquiera de los medicamentos y usos anteriores, el cáncer es evaluado como positivo para la expresión de uno o de ambos de PD-L1 y PD-L2. En algunas realizaciones, el cáncer presenta una elevada expresión de PD-L1.

En una realización de los medicamentos y usos anteriores, el individuo es un humano y el cáncer es un tumor sólido avanzado que es evaluado como positivo para PD-L1 humano.

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo monoclonal antagonista anti-PD-1, para uso en el tratamiento de cáncer, donde el anticuerpo monoclonal antagonista anti-PD-1 es para uso separado, secuencial o simultáneo en combinación con un anticuerpo monoclonal agonista anti-4-1BB, y donde el antagonista de PD-1 es un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde las cadenas pesada y ligera comprenden la SEQ ID NO: 21 y la SEQ ID NO: 22, respectivamente; y donde el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal agonista de 4-1BB que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde las cadenas pesada y ligera comprenden la SEQ ID NO: 35 y la SEQ ID NO: 36, respectivamente.

En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo monoclonal agonista anti-4-1BB, para uso en el tratamiento de cáncer, donde el anticuerpo monoclonal agonista anti-4-1BB es para uso separado, secuencial o simultáneo en combinación con un anticuerpo monoclonal anti-PD-1, y donde el antagonista de PD-1 es un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde las cadenas pesada y ligera comprenden la SEQ ID NO: 21 y la SEQ ID NO: 22, respectivamente; y donde el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal agonista de 4-1BB que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde las cadenas pesada y ligera comprenden la SEQ ID NO: 35 y la SEQ ID NO: 36, respectivamente.

### Descripción breve de las figuras

Figura 1: muestra las secuencias de aminoácidos de las CDRs de cadena ligera y cadena pesada para un ejemplo de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 útil en la presente invención (SEQ ID NOS: 1-6).

Figura 2: muestra las secuencias de aminoácidos de las CDRs de cadena ligera y cadena pesada para otro ejemplo de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 útil en la presente invención (SEQ ID NOS: 7-12).

Figura 3: muestra las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada y de la cadena pesada de longitud completa correspondientes a un ejemplo de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 útil en la presente invención (SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 14).

Figura 4: muestra las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena ligera alternativas correspondientes a un ejemplo de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 útil en la presente invención (SEQ ID NOS: 15-17).

Figura 5A: muestra las secuencias de aminoácidos de cadenas ligeras alternativas correspondientes a un ejemplo de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 útil en la presente invención (SEQ ID NOS: 18 y 19).

Figura 5B: muestra la secuencia de aminoácidos de cadena ligera alternativa correspondiente a un ejemplo de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 útil en la presente invención (SEQ ID NO: 20).

Figura 6: muestra las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera correspondientes a MK-3475 (SEQ ID NOS: 21 y 22, respectivamente).

Figura 7: muestra las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera correspondientes a nivolumab (SEQ ID NOS: 23 y 24, respectivamente).

Figura 8: muestra las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera correspondientes al anticuerpo agonista de 4-1BB (SEQ ID NOS: 33 y 34, respectivamente).

Figura 9: muestra los efectos sobre la inhibición del crecimiento tumoral en un modelo de ratón de carcinoma de colon tratado con un anticuerpo agonista de 4-1BB, un anticuerpo de antagonista de PD-1, una combinación de los dos anticuerpos o un control de vehículo.

5 Figura 10: muestra las secuencias de aminoácidos de las secuencias CDR de cadena pesada (SEQ ID NOs: 27, 28 y 29), y las secuencias CDR de cadena ligera (SEQ ID NOs: 30, 31 y 32) correspondientes al anticuerpo agonista de 4-1BB.

Figura 11: muestra las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera correspondientes a PF-05082566 (SEQ ID NOs: 35 y 36, respectivamente).

10 Figura 12A: es una gráfica que muestra la actividad anti-tumoral de control de mlgG1 isótopo 5 mpk en ratones C57BL/6.

Figura 12B: es una gráfica que muestra la actividad anti-tumoral de control de rlgG1 isótopo 10 mpk en ratones C57BL/6.

Figura 12C: es una gráfica que muestra la actividad anti-tumoral de agonista anti 4-1BB solo en ratones C57BL/6.

Figura 12D: es una gráfica que muestra la actividad anti-tumoral de antagonista anti PD-1 solo en ratones C57BL/6.

15 Figura 12E: es una gráfica que muestra la actividad anti-tumoral de agonista anti 4-1BB en combinación con antagonista anti PD-1 en ratones C57BL/6.

Figura 12F: es una gráfica que muestra la actividad anti-tumoral de agonista anti 4-1BB solo en ratones C57BL/6.

Figura 12G: es una gráfica que muestra la actividad anti-tumoral de agonista anti 4-1BB solo en ratones C57BL/6.

Figura 12H: es una gráfica que muestra la actividad anti-tumoral de agonista anti 4-1BB solo en ratones C57BL/6.

20 Figura 13: es una gráfica que muestra la pérdida de peso corporal en ratones C57BL/6 tratados con mlgG1 isótopo 5 mpk, rlgG1 isótopo 10 mpk, agonista anti 4-1BB solo, antagonista anti PD-1 solo y agonista anti 4-1BB en combinación con antagonista anti PD-1.

### Descripción detallada

25 **Abreviaturas.** A lo largo de la descripción detallada y de los ejemplos de la invención se emplearán las siguientes abreviaturas:

	BID	Una dosis dos veces al día
	CDR	Región determinante de la complementariedad
	CHO	Ovario de hámster chino
	DFS	Supervivencia libre de enfermedad
30	DTR	Toxicidad limitante de dosis
	FFPE	Fijado con formalina, embebido en parafina
	FR	Región estructural
	IgG	Inmunoglobulina G
	IHC	Inmunohistoquímica o inmunohistoquímico
35	MPK	Miligramo por kilogramo
	MTD	Dosis tolerada máxima
	NCBI	National Center for Biotechnology Information
	NCI	National Cancer Institute
	OR	Respuesta global
40	OS	Supervivencia global
	PD	Enfermedad progresiva
	PFS	Supervivencia libre de progresión
	PR	Respuesta parcial
	Q2W	Una dosis cada dos semanas
45	Q3W	Una dosis cada tres semanas
	Q4W	Una dosis cada cuatro semanas
	QD	Una dosis diaria
	RECIST	Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos
	SD	Enfermedad estable
50	VH	Región variable de cadena pesada de inmunoglobulina
	VK	Región variable de cadena ligera de inmunoglobulina kappa

### I. Definiciones

A fin de facilitar la comprensión de la invención, a continuación se definen específicamente determinados términos técnicos y científicos. A menos que se definan de forma específica en otro sitio de este documento, todos los términos usados en la presente memoria tienen el significado entendido habitualmente por los especialistas en la técnica a la que pertenece la invención.

5 “Aproximadamente”, cuando se usa para modificar un parámetro definido numéricamente (p.ej., la dosis de un antagonista de PD-1 o un agonista de 4-1BB, o el periodo de tiempo de tratamiento con una terapia de combinación descrita en la presente memoria), significa que el parámetro puede variar como mucho en un 10% por encima o por debajo del valor numérico enunciado para dicho parámetro. Por ejemplo, una dosis de aproximadamente 5 mg/kg puede variar entre 4,5 mg/kg y 5,5 mg/kg.

10 Tal como se usa en la presente memoria, que incluye las reivindicaciones anexas, las formas singulares de palabras tales como “un”, “una” y “el/la”, incluyen sus correspondientes referencias en plural, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

15 “Administración” y “tratamiento”, cuando se aplica a un animal, humano, sujeto experimental, célula, tejido, órgano o fluido biológico, se refieren al contacto de un agente o composición exógena farmacéutica, terapéutica o diagnóstica, con el animal, humano, sujeto, célula, tejido, órgano o fluido biológico. El tratamiento de una célula contempla el contacto de un reactivo con la célula, así como el contacto de un reactivo con un fluido, donde el fluido está en contacto con la célula. “Administración” y “tratamiento” también significan tratamientos *in vitro* o *ex vivo*, p.ej., de una célula, mediante un reactivo, compuesto diagnóstico, compuesto de unión, u otra célula. El término “sujeto” incluye cualquier organismo, preferiblemente un animal, más preferiblemente un mamífero (p.ej., rata, ratón, perro, gato, conejo) y lo más preferiblemente un humano.

20 El término “vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a cualquier sustancia inactiva que es adecuada para uso en una formulación para la administración de una molécula de unión. Un vehículo puede ser un agente antiadherente, aglomerante, recubrimiento, desintegrante, relleno o diluyente, conservante (tal como un agente antioxidante, antibacteriano o antifúngico), edulcorante, agente de retardo de la absorción, agente humectante, agente emulsionante, y similares. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen agua, etanol, polioles (tal como glicerol, propilén glicol, polietilén glicol, y similares), dextrosa, aceites vegetales (tal como aceite de oliva), salino, tampón, salino tamponado, y agentes isotónicos tales como azúcares, polialcoholes, sorbitol y cloruro sódico.

25 Tal como se usa en la presente memoria, el término “anticuerpo” se refiere a cualquier forma de molécula de inmunoglobulina que exhibe la actividad biológica o de unión deseada. De esta manera, se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente, aunque sin limitación, anticuerpos monoclonales (que incluyen anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (p.ej., anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanizados, anticuerpos completamente humanos, anticuerpos quiméricos y anticuerpos de dominio único camelizados. “Anticuerpos progenitores” son anticuerpos obtenidos por exposición de un sistema inmunitario a un antígeno antes de la modificación de los anticuerpos para un uso pretendido, tal como humanización de un anticuerpo para uso como agente terapéutico en humanos. Tal como se usa en la presente memoria, el término “anticuerpo” abarca no solo anticuerpos policlonales y monoclonales intactos, sino también, a menos que se especifique lo contrario, cualquier porción de unión a antígeno de los mismos que compita con el anticuerpo intacto en la unión específica, proteínas de fusión que comprenden una porción de unión a antígeno, y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno.

30 Las porciones de unión a antígeno incluyen, por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, anticuerpos de dominio (dAbs, p.ej., anticuerpos de tiburón y de camélido), fragmentos que incluyen regiones determinantes de la complementariedad (CDRs), anticuerpos de fragmento de variable de cadena individual (scFv), maxicuerpos, minicuerpos, intracuerpos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, v-NAR y bis-scFv, y polipéptidos que contienen al menos una porción de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir una unión a antígeno específica al polipéptido. Un anticuerpo incluye un anticuerpo de cualquier clase, tal como IgG, IgA o IgM (o cualquier sub-clase de los mismos), y el anticuerpo no tiene porqué ser de una clase particular. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo en la región constante de sus cadenas pesadas, las inmunoglobulinas pueden asignarse a diferentes clases. Existen cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de éstas pueden dividirse a su vez en subclases (isotipos), p.ej., IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> e IgA<sub>2</sub>. Las regiones constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las estructuras de subunidad y las configuraciones tri-dimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

El término “anticuerpo de 4-1BB” tal como se usa en la presente memoria significa un anticuerpo, tal como se define en la presente memoria, capaz de unirse a un receptor de 4-1BB humano.

55 “Regiones variables” o “región V” o “cadena V” tal como se usa en la presente memoria significa el segmento de cadenas de IgG que es variable en secuencia entre anticuerpos diferentes. Se extiende hasta el residuo Kabat 109 de la cadena ligera y el 113 de la cadena pesada. Una “región variable” de un anticuerpo se refiere a la región variable de la cadena ligera del anticuerpo o a la región variable de la cadena pesada del anticuerpo, tanto sola como en combinación. Típicamente, las regiones variables tanto de cadenas pesadas como ligeras comprenden tres regiones hipervariables, también denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDRs), que se localizan dentro

de regiones estructurales (FR) relativamente conservadas. Las CDRs habitualmente están alineadas por las regiones estructurales, lo que permite la unión a un epítipo específico. En general, desde el extremo N al extremo C, tanto los dominios variables de cadenas ligeras como pesadas comprenden FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La asignación de aminoácidos a cada dominio se realiza, generalmente, de acuerdo a las definiciones de "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32: 1-75; Kabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252: 6609-6616; Chothia, et al., (1987) J Mol. Biol. 196: 901-917 o Chothia, et al., (1989) Nature 342: 878-883.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "región hipervariable" se refiere a los residuos de aminoácido de un anticuerpo que son responsables de la unión a antígeno. La región hipervariable comprende residuos de aminoácido de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (es decir, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 en el dominio variable de cadena ligera y CDRH1, CDRH2 y CDRH3 en el dominio variable de cadena pesada). Véase Kabat et al. (1991) "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (que define las regiones CDR de un anticuerpo en términos de secuencia); véase también Chothia y Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917 (que define las regiones CDR de un anticuerpo en términos de estructura). Tal como se usa en la presente memoria, el término residuos "estructurales" o de "FR" se refiere a aquellos residuos de dominio variable distintos de los residuos de la región hipervariable definidos en la presente memoria como residuos de CDR.

Tal como se usa en la presente memoria, a menos que se indique lo contrario, "fragmento de anticuerpo" o "fragmento de unión a antígeno" se refiere a los fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos, es decir, fragmentos de anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente al antígeno ligado por el anticuerpo de longitud completa, p.ej., fragmentos que retienen una o más de las regiones CDR. Los ejemplos de fragmentos de unión de anticuerpos incluyen, aunque sin limitación, fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo de cadena sencilla, p.ej., sc-Fv; nanocuerpos y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

Un anticuerpo que "se une específicamente a" una proteína diana especificada es un anticuerpo que exhibe una unión preferente por la diana en comparación con otras proteínas, pero dicha especificidad no requiere una especificidad de unión absoluta. Un anticuerpo se considera "específico" para su diana pretendida si su unión es determinante de la presencia de la proteína diana en una muestra, p.ej., sin producir resultados no deseados tales como falsos positivos. Los anticuerpos, o los fragmentos de unión de los mismos, útiles en la presente invención se unirán a la proteína diana con una afinidad que es al menos dos veces superior, preferiblemente al menos diez veces superior, más preferiblemente al menos 20 veces superior, y lo más preferiblemente al menos 100 veces superior que la afinidad por proteínas distintas a la diana. Tal como se usa en la presente memoria, se dice que un anticuerpo se une específicamente a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos dada, p.ej., la secuencia de aminoácidos de una molécula madura PD-1 humana o PD-L1 humana, si se une a polipéptidos que comprenden dicha secuencia, pero no se une a proteínas que carecen de dicha secuencia.

"Anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en un anticuerpo derivado de una especie particular (p.ej., humano) o que pertenecen a una clase o subclase particular de anticuerpo, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es(son) idéntica(s) u homóloga(s) a las correspondientes secuencias de un anticuerpo derivado de otra especie (p.ej., ratón) o que pertenece(n) a otra clase o subclase particular de anticuerpo, así como los fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que exhiban la actividad biológica deseada.

"Anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo que comprende solo secuencias proteínicas de inmunoglobulina humana. Un anticuerpo humano puede contener cadenas de carbohidratos de ratón si se produce en un ratón, en una célula de ratón, o en un hibridoma derivado de una célula de ratón. De forma similar, "anticuerpo de ratón" o "anticuerpo de rata" se refieren a un anticuerpo que comprende solo secuencias de inmunoglobulina de ratón o de rata, respectivamente.

"Anticuerpo humanizado" se refiere a formas de anticuerpos que contienen secuencias de anticuerpos no humanos (p.ej. de ratón), así como anticuerpos humanos. Dichos anticuerpos contienen una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todo de al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, donde todos, o sustancialmente todos, los bucles hipervariables corresponden a los de una inmunoglobulina no humana, y todas, o sustancialmente todas, las regiones FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado opcionalmente también comprenderá al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina humana. Se añade el prefijo "hum", "hu" o "h" a las designaciones de clones de anticuerpos cuando es necesario distinguir anticuerpos humanizados de los anticuerpos de roedor progenitores. Las formas humanizadas de los anticuerpos de roedor generalmente comprenderán las mismas secuencias de CDR de los anticuerpos de roedor progenitores, aunque se pueden incluir determinadas sustituciones de aminoácidos para aumentar la afinidad, aumentar la estabilidad del anticuerpo humanizado, o por otras razones.

Los términos "cáncer", "canceroso" o "maligno" se refieren o describen la condición fisiológica en mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento celular incontrolado. Los ejemplos de cáncer incluyen, aunque sin

limitación, carcinoma, linfoma, leucemia, blastoma y sarcoma. Ejemplos más particulares de dichos cánceres incluyen carcinoma de células escamosas, mieloma, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, glioma, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, leucemia mieloide aguda (AML), mieloma múltiple, cáncer (de tracto) gastrointestinal, cáncer renal, cáncer de ovario, cáncer hepático, leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica, cáncer colorrectal, cáncer endometrial, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, melanoma, condrosarcoma, neuroblastoma, cáncer pancreático, glioblastoma multiforme, cáncer de hueso, sarcoma de Ewing, cáncer de cuello uterino, cáncer de cerebro, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon, y cáncer de cabeza y cuello. Con un método proporcionado en la presente descripción se pueden tratar o prevenir una variedad de cánceres en los que están implicados 4-1BB, PD-L1 o PD-L2, tanto malignos como benignos y primarios o secundarios. Los cánceres particularmente preferidos que pueden ser tratados según la presente invención incluyen aquellos caracterizados por una elevada expresión de uno o ambos de PD-L1 y PD-L2 en muestras de tejido evaluadas.

“Agente bioterapéutico” significa una molécula biológica, tal como un anticuerpo o una proteína de fusión, que bloquea la señalización ligando / receptor en cualquier ruta biológica que soporte el mantenimiento y/o el crecimiento tumoral o que suprima la respuesta inmune anti-tumoral.

“CDR” o “CDRs” tal como se usa en la presente memoria significa región(es) determinante(s) de complementariedad en una región variable de inmunoglobulina, definida usando el sistema de numeración Kabat, a menos que se indique lo contrario.

“Agente quimioterapéutico” se refiere a una sustancia química o biológica que puede causar la muerte de células cancerosas, o interferir en el crecimiento, división, reparación y/o función de las células cancerosas. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen los descritos en WO 2006/129163 y en US 20060153808. Las clases de agentes quimioterapéuticos incluyen, aunque sin limitación: agentes alquilantes, antimetabolitos, inhibidores de quinasa, alcaloides vegetales de veneno de husillo, antibióticos citotóxicos/antitumorales, inhibidores de topoisomerasa, fotosensibilizadores, anti-estrógenos y moduladores de receptor de estrógeno selectivos (SERMs), anti-progesteronas, reguladores a la baja de receptor de estrógeno (ERDs), antagonistas de receptor de estrógeno, agonistas de hormona de liberación de hormona leutinizante, oligonucleótidos anti-sentido que inhiben la expresión de genes implicados en una proliferación anormal de células o crecimiento tumoral. Los agentes quimioterapéuticos útiles en la presente descripción incluyen agentes citoestáticos y/o citotóxicos.

Los anticuerpos y composiciones proporcionados por la presente descripción pueden administrarse a través de cualquier ruta de administración enteral o parenteral adecuada. El término “ruta enteral” de administración se refiere a la administración vía cualquier parte del tracto gastrointestinal. Los ejemplos de rutas enterales incluyen la ruta oral, mucosal, bucal y rectal, o la ruta intragástrica. “Ruta parenteral” de administración se refiere a una ruta de administración diferente a la ruta enteral. Los ejemplos de rutas parenterales de administración incluyen la administración intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, intratumoral, intravesicular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, transtraqueal, intraarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal, epidural e intrastemal, subcutánea o tópica. Los anticuerpos y composiciones de la descripción pueden administrarse usando cualquier método adecuado, tal como mediante ingestión oral, tubo nasogástrico, tubo de gastrostomía, inyección, infusión, bomba de infusión implantable y bomba osmótica. La ruta y el método adecuado de administración pueden variar dependiendo de una serie de factores tales como el anticuerpo específico que se esté usando, la velocidad de absorción deseada, la formulación específica o la forma de dosis usada, el tipo o la gravedad del trastorno que esté siendo tratado, el sitio específico de acción, y las condiciones del paciente, y pueden ser seleccionadas fácilmente por el especialista en la técnica.

El término “administración simultánea” tal como se usa en la presente memoria en relación con la administración de medicamentos se refiere a la administración de medicamentos de tal modo que los medicamentos individuales están presentes dentro de un sujeto al mismo tiempo. Además de la administración concomitante de medicamentos (a través de la misma ruta o de rutas alternativas), la administración simultánea puede incluir la administración de los medicamentos (a través de la misma ruta o de una ruta alternativa) a tiempos diferentes.

La respuesta combinada de Independencia Bliss  $C$  correspondiente a dos compuestos individuales con efectos  $A$  y  $B$  es  $C = A + B - A*B$ , donde cada efecto se expresa como una inhibición fraccional entre 0 y 1. (Referencia: Bliss (1939) *Annals of Applied Biology*). El valor Bliss, definido como la diferencia entre la respuesta experimental y el valor de Independencia Bliss, indica si los dos compuestos en combinación son aditivos o sinérgicos.

Un valor Bliss de cero (0) se considera aditivo. El término “aditivo” significa que el resultado de la combinación de los dos agentes diana es la suma de cada agente por separado.

“Chothia” tal como se usa en la presente memoria significa un sistema de numeración de anticuerpos descrito en Al-Lazikani *et al.*, *JMB* **273**: 927-948 (1997).

“Variantes modificadas conservativamente” o “sustitución conservativa” se refiere a sustituciones de aminoácidos en una proteína con otros aminoácidos que tienen características similares (p.ej., carga, tamaño de cadena lateral, hidrofobicidad/hidrofiliidad, conformación de la cadena principal y rigidez, etc.), de tal modo que se pueden realizar

cambios frecuentemente sin alterar la actividad biológica u otra propiedad deseada de la proteína, tal como la afinidad y/o la especificidad de antígeno. Los especialistas en esta técnica reconocen que, en general, las sustituciones de aminoácidos individuales en regiones no esenciales de un polipéptido no alteran sustancialmente la actividad biológica (véase, p.ej., Watson *et al.* (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Adicionalmente, es menos probable que las sustituciones de aminoácidos estructural o funcionalmente similares alteren la actividad biológica. Los ejemplos de sustituciones conservativas se incluyen a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1. Ejemplos de sustituciones de aminoácidos conservativas

Residuo original	Sustitución conservativa
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Tyr; Phe
Val (V)	Ile; Leu

“Consiste esencialmente en”, y variaciones tales como “consisten esencialmente en” o “que consiste esencialmente en”, tal como se usa a lo largo de la especificación y de las reivindicaciones, indican la inclusión de cualesquier elementos enumerados o grupo de elementos, y la inclusión opcional de otros elementos, de naturaleza similar o diferente a los elementos enumerados, que no cambian materialmente las propiedades básicas o novedosas del régimen de dosis, método o composición especificados. Como ejemplo no limitativo, un antagonista de PD-1 que consiste esencialmente en una secuencia de aminoácidos enumerada también puede incluir uno o más aminoácidos, que incluye sustituciones de uno o más residuos de aminoácido, que no afectan materialmente a las propiedades del compuesto de unión.

“Anticuerpo monoclonal anti-PD-L de diagnóstico” significa un mAb que se une específicamente a la forma madura del PD-L designado (PD-L1 o PDL2) que se expresa en la superficie de determinadas células de mamífero. Un PD-L maduro carece de la secuencia líder presecretora, también denominada péptido líder. Los términos “PD-L” y “PD-L maduro” se usan en la presente memoria de forma intercambiable, y debería entenderse que significan la misma molécula a menos que se indique lo contrario o que sea fácilmente identificable por el contexto.

Tal como se usa en la presente memoria, un mAb de PD-L1 anti-humano de diagnóstico o un mAb anti-hPD-L1 se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a PD-L1 humano maduro. Una molécula de PD-L1 humano maduro consiste en los aminoácidos 19-290 de la siguiente secuencia:

MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYW  
 EMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYR  
 CMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDVPTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSS  
 DHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPEL  
 PLAHPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTSKQSDTHL  
 EET (SEQ ID NO: 25).

Los ejemplos específicos de mAbs anti-PD-L1 humano diagnósticos son útiles como mAbs diagnósticos para la detección inmunohistoquímica (IHC) de la expresión de PD-L1 en secciones de tejido fijadas en formalina, embebidas en parafina (FFPE) son el anticuerpo 20C3 y el anticuerpo 22C3, que se describen en la solicitud de patente internacional pendiente WO/2014/100079, presentada el 18 de diciembre de 2013. Otro mAb anti-PD-L1 humano que ha sido presentado como útil para la detección IHC de la expresión de PD-L1 en secciones de tejido FFPE (Chen, B.J. et al., *Clin Cancer Res* 19: 3462-3473 (2013)) es un mAb anti-PD-L1 humano de conejo disponible públicamente en Sino Biological, Inc. (Pekín, R.P. China; número de catálogo 10084-R015).

“Región estructural” o “FR”, tal como se usan en la presente memoria, significan las regiones variables de inmunoglobulina que excluyen las regiones CDR.

“Homología” se refiere a la similitud de secuencia entre dos secuencias de polipéptido cuando están alineadas de forma óptima. Cuando una posición en ambas secuencias comparadas está ocupada por la misma subunidad de monómero de aminoácido, p.ej., si una posición de una CDR de cadena ligera de dos Abs diferentes está ocupada por alanina, entonces los dos Abs son homólogos en dicha posición. El porcentaje de homología es el número de posiciones homólogas compartidas por las dos secuencias dividido por el número total de posiciones comparadas x 100. Por ejemplo, si 8 de 10 posiciones en las dos secuencias coinciden o son homólogas cuando las secuencias se alinean de forma óptima, entonces las dos secuencias tienen una homología del 80%. De forma general, la comparación se realiza cuando las dos secuencias se alinean para proporcionar el máximo porcentaje de homología. Por ejemplo, la comparación se puede llevar a cabo mediante un algoritmo BLAST en el que se seleccionan los parámetros del algoritmo para obtener la máxima coincidencia entre las respectivas secuencias a lo largo de toda la longitud de las respectivas secuencias de referencia.

Las siguientes referencias se refieren a algoritmos BLAST usados a menudo para el análisis de secuencias: BLAST ALGORITHM: Altschul, S.F., et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410; Gish, W., et al., (1993) *Nature Genet.* 3: 266-272; Madden, T.L., et al., (1996) *Meth. Enzymol.* 266: 131-141; Altschul, S.F., et al., (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) *Genome Res.* 7: 649-656; Wootton, J.C., et al., (1993) *Comput. Chem.* 17: 149-163; Hancock, J.M. et al., (1994) *Comput. Appl. Biosci.* 10: 67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." en *Atlas of Protein Sequence and Structure*, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, *Natl. Biomed. Res. Found.*, Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." en *Atlas of Protein Sequence and Structure*, (1978) vol. 5, suppl. 3." M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, *Natl. Biomed. Res. Found.*, Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) *J. Mol. Biol.* 219: 555-565; States, D.J., et al., (1991) *Methods* 3: 66-70; Henikoff, S., et al., (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10915-10919; Altschul, S.F., et al., (1993) *J. Mol. Evol.* 36: 290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 2264-2268; Karlin, S., et al., (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5873-5877; Dembo, A., et al., (1994) *Ann. Prob.* 22: 2022-2039; y Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." en *Theoretical and Computational Methods in Genome Research* (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, Nueva York.

“Anticuerpo aislado” y “fragmento de anticuerpo aislado” se refieren a estado de purificación, y en dicho contexto significan que la molécula mencionada está sustancialmente libre de otras moléculas biológicas tales como ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, carbohidratos, u otro material tal como restos celulares y medio de cultivo. Generalmente, no se pretende que el término “aislado” se refiera a una ausencia completa de dichos materiales o a la ausencia de agua, tampones o sales, a menos que estén presentes en cantidades que interfieran de forma sustancial con el uso experimental o terapéutico del compuesto de unión descrito en la presente memoria.

“Kabat” tal como se usa en la presente memoria significa un sistema de alineamiento y numeración de inmunoglobulina propuesto originalmente por Elvin A. Kabat ((1991) “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.).

“Anticuerpo monoclonal” o “mAb” o “Mab”, tal como se usan en la presente memoria, se refieren a una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, las moléculas de anticuerpo que comprende la población son idénticas en secuencia de aminoácidos, excepto por las posibles mutaciones naturales que pueda haber presentes en cantidad pequeña. Por el contrario, las preparaciones de anticuerpos convencionales (policlonales) típicamente incluyen una multitud de anticuerpos diferentes que tienen diferentes secuencias de aminoácidos en sus dominios variables, particularmente en sus CDRs, que a menudo son específicos para diferentes epítopos. El modificador “monoclonal” indica el carácter del anticuerpo, obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, y no debe considerarse que requiera la producción del anticuerpo mediante ningún método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales a usar según la presente invención pueden prepararse mediante el método de hibridoma, descrito originalmente por Kohler et al. (1975) *Nature* 256: 495, o pueden prepararse mediante métodos de ADN recombinante (véase, p.ej., la Patente de EE.UU. nº 4.816.567). Los “anticuerpos monoclonales” también pueden aislarse de bibliotecas de anticuerpos de fago usando las técnicas descritas en Clackson et al. (1991) *Nature* 352: 624-628 y en Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.* 222: 581-597, por ejemplo. Véase también Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731.

“Paciente” o “sujeto” se refieren a cualquier sujeto individual para el cual se desea la terapia o que participa en un ensayo clínico, un estudio epidemiológico o que se usa como control, incluyendo pacientes humanos y pacientes veterinarios mamíferos, tal como vacas, caballos, perros y gatos.

5 “Antagonista de PD-1” significa cualquier compuesto químico o molécula biológica que bloquea la unión de PD-L1 expresado en una célula de cáncer a PD-1 expresada en una célula inmune (célula T, célula B o célula NKT) y preferiblemente también bloquea la unión de PD-L2 expresado en una célula de cáncer a la PD-1 expresada en una célula inmune. Los nombres alternativos o sinónimos para PD-1 y sus ligandos incluyen: PDCD1, PD1, CD279 y SLEB2 para PD-1; PDCD1L1, PDL1, B7H1, B7-4, CD274 y B7-H para PD-L1; y PDCD1L2, PDL2, B7-DC, Btdc y CD273 para PD-L2. En cualquiera de los medicamentos y usos de la presente invención donde se está tratando un individuo humano, el antagonista de PD-1 bloquea la unión de PD-L1 humano a PD-1 humana, y preferiblemente bloquea la unión de PD-L1 y PD-L2 humanos a PD-1 humana. Ejemplos de las secuencias de aminoácidos de PD-1 humana se pueden encontrar en NCBI Localización N°: NP\_005009. Ejemplos de las secuencias de aminoácidos de PD-L1 y PD-L2 humanos se pueden encontrar en NCBI Localización N°: NP\_054862 y NP\_079515, respectivamente.

15 Los antagonistas de PD-1 útiles en cualquiera de los medicamentos y usos de la presente invención incluyen un anticuerpo monoclonal (mAb), o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se unen específicamente a PD-1 o PD-L1, y preferiblemente se unen a PD-1 humana o a PD-L1 humano. El mAb puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico, y puede incluir una región constante humana. En algunas realizaciones, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en las regiones constantes de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, y en algunas realizaciones, la región constante humana es una región constante de IgG1 o IgG4. En algunas realizaciones, el fragmento de unión a antígeno se selecciona del grupo que consiste en los fragmentos Fab, Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>, scFv y Fv.

25 Ejemplos de mAbs que se unen a PD-1 humana, y que son útiles en los medicamentos y usos de la presente invención, se describen en US7488802, US7521051, US8008449, US8354509, US8168757, WO2004/004771, WO2004/072286, WO2004/056875 y US2011/0271358. Los mAbs anti-PD-1 humana específicos útiles como antagonistas de PD-1 en los medicamentos y usos de la presente invención incluyen: MK-3475, un mAb de IgG4 humanizado con la estructura descrita en *WHO Drug Information*, Vol. 27, No. 2, páginas 161-162 (2013) y que comprende las secuencias de aminoácido de cadena pesada y ligera mostradas en la Figura 6, nivolumab (BMS-936558), un mAb de IgG4 humano con la estructura descrita en *WHO Drug Information*, Vol. 27, No. 1, páginas 68-69 (2013) y que comprende las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera mostradas en la Figura 7; los anticuerpos humanizados h409A11, h409A16 y h409A17, que se describen en WO2008/156712, y AMP-514, que está siendo desarrollad por MedImmune.

35 Ejemplos de mAbs que se unen a PD-L1 humano, y que son útiles en los medicamentos y usos de la presente invención, se describen en WO2013/019906, WO2010/077634 A1 y US8383796. Los mAbs anti-PD-L1 humano específicos útiles como antagonistas de PD-1 en los medicamentos y usos de la presente invención incluyen MPDL3280A, BMS-936559, MEDI4736, MSB0010718C y un anticuerpo que comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera de las SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO: 21, respectivamente, del documento WO2013/019906.

40 Otros antagonistas de PD-1 útiles en cualquiera de los medicamentos y usos de la presente invención incluyen una inmunoadhesina que se une específicamente a PD-1 o PD-L1, y preferiblemente que se une específicamente a PD-1 humana o a PD-L1 humano, p.ej., una proteína de fusión que contiene la porción extracelular o de unión a PD-1 de PD-L1 o PD-L2 fusionada a una región constante tal como una región Fc de una molécula de inmunoglobulina. Los ejemplos de moléculas de inmunoadhesión que se unen específicamente a PD-1 se describen en WO2010/027827 y WO2011/066342. Las proteínas de fusión específicas útiles como antagonistas de PD-1 en los medicamentos y usos de la presente invención incluyen AMP-224 (también conocida como B7-DCIg), que es una proteína de fusión PD-L2-FC y se une a PD-1 humana.

45 En la presente memoria se describe que el antagonista de PD-1 es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende: (a) CDRs de cadena ligera, SEQ ID NOs: 1, 2, y 3 y CDRs de cadena pesada, SEQ ID NOs: 4, 5 y 6; (b) CDRs de cadena ligera, SEQ ID NOs: 7, 8 y 9 y CDRs de cadena pesada, SEQ ID NOs: 10, 11 y 12.

50 En la presente memoria se describe que el antagonista de PD-1 es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a PD-1 humana y que comprende (a) una región variable de cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 13 o una variante de la misma, y (b) una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 15 o una variante de la misma; la SEQ ID NO: 16 o una variante de la misma; y la SEQ ID NO: 17 o una variante de la misma. Una variante de una secuencia de región variable de cadena pesada es idéntica a la secuencia de referencia excepto porque tiene hasta 17 sustituciones de aminoácido conservativas en la región estructural (es decir, fuera de las CDRs), y preferiblemente menos de diez, nueve, ocho, siete, seis o cinco sustituciones de aminoácido conservativas en la región estructural. Una variante de una secuencia de región variable de cadena ligera es idéntica a la secuencia de referencia excepto porque tiene hasta cinco sustituciones de aminoácido conservativas en la región estructural (es decir, fuera de las CDRs), y preferiblemente menos de cuatro, tres o dos sustituciones de aminoácido conservativas en la región estructural.

En la presente memoria se describe un antagonista de PD-1 que es un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a PD-1 humana y que comprende (a) una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 14 y (b) una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20.

5 En la presente memoria se describe un antagonista de PD-1 que es un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a PD-1 humana y que comprende (a) una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 14 y (b) una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 18.

La Tabla 2 incluida a continuación proporciona una lista de las secuencias de aminoácido de ejemplos de mAbs anti-PD-1 para uso en los medicamentos y usos de la presente invención, y las secuencias se muestran en las Figuras 1-5.

10 Tabla 2.

EJEMPLOS DE ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-PD-1 HUMANA	
A. Comprende las CDRs de cadena ligera y pesada de hPD-1.08A de WO2008/156712	
CDRL1	SEQ ID NO: 1
CDRL2	SEQ ID NO: 2
CDRL3	SEQ ID NO: 3
CDRH1	SEQ ID NO: 4
CDRH2	SEQ ID NO: 5
CDRH3	SEQ ID NO: 6
B. Comprende las CDRs de cadena ligera y pesada de hPD-1.09A de WO2008/156712	
CDRL1	SEQ ID NO: 7
CDRL2	SEQ ID NO: 8
CDRL3	SEQ ID NO: 9
CDRH1	SEQ ID NO: 10
CDRH2	SEQ ID NO: 11
CDRH3	SEQ ID NO: 12
C. Comprende la región variable de cadena pesada de h109A madura y una de las regiones variables de cadena ligera de K09A madura de WO2008/156712	
VR de cadena pesada	SEQ ID NO: 13
VR de cadena ligera	SEQ ID NO: 15 o SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17
D. Comprende la cadena pesada de 409 madura y una de las cadenas ligeras de K09A maduras de WO2008/156712	
Cadena pesada	SEQ ID NO: 14
Cadena ligera	SEQ ID NO: 18 o SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20

La Tabla 3 proporciona una breve descripción de las secuencias del listado de secuencias.

Tabla 3

SEQ ID NO:	Descripción
1	CDR1 de cadena ligera de hPD-1.08A
2	CDR2 de cadena ligera de hPD-1.08A
3	CDR3 de cadena ligera de hPD-1.08A
4	CDR1 de cadena pesada de hPD-1.08A
5	CDR2 de cadena pesada de hPD-1.08A
6	CDR3 de cadena pesada de hPD-1.08A
7	CDR1 de cadena ligera de hPD-1.09A
8	CDR2 de cadena ligera de hPD-1.09A
9	CDR3 de cadena ligera de hPD-1.09A

10	CDR1 de cadena pesada de hPD-1.09A
11	CDR2 de cadena pesada de hPD-1.09A
12	CDR3 de cadena pesada de hPD-1.09A
13	Región variable de cadena pesada de 109A-H
14	Cadena pesada de longitud completa de 409A-H
15	Región variable de cadena ligera de K09A-L-11
16	Región variable de cadena ligera de K09A-L-16
17	Región variable de cadena ligera de K09A-L-17
18	Cadena ligera de longitud completa de K09A-L-11
19	Cadena ligera de longitud completa de K09A-L-16
20	Cadena ligera de longitud completa de K09A-L-17
21	Cadena pesada de MK-3475
22	Cadena ligera de MK-3475
23	Cadena pesada de nivolumab
24	Cadena ligera de nivolumab
25	PD-L1 humano
26	4-1BB humana
27	CDR1 de cadena pesada de agonista de 4-1BB
28	CDR2 de cadena pesada de agonista de 4-1BB
29	CDR3 de cadena pesada de agonista de 4-1BB
30	CDR1 de cadena ligera de agonista de 4-1BB
31	CDR2 de cadena ligera de agonista de 4-1BB
32	CDR3 de cadena ligera de agonista de 4-1BB
33	Región variable de cadena pesada de agonista de 4-1BB
34	Región variable de cadena ligera de agonista de 4-1BB
35	Cadena pesada de agonista de 4-1BB
36	Cadena ligera de agonista de 4-1BB

5 Expresión de "PD-L1" o expresión de "PD-L2" tal como se usa en la presente memoria significa cualquier nivel detectable de expresión de la proteína PD-L designada sobre la superficie celular o del ARNm de PD-L designado dentro de una célula o tejido. La expresión de proteína PD-L puede detectarse con un anticuerpo de PD-L diagnóstico en un ensayo IHC de una sección de tejido tumoral, o mediante citometría de flujo. Alternativamente, la expresión de proteína PD-L por parte de células tumorales puede detectarse mediante imágenes PET, usando un agente de unión (p.ej., fragmento de anticuerpo, aficuerpo y similar) que se une específicamente a la diana PD-L deseada, p.ej., PD-L1 o PD-L2. Las técnicas para detectar y medir la expresión de ARNm de PD-L incluyen RT-PCR y RT-PCR cuantitativa en tiempo real.

10 Se han descrito varias estrategias para cuantificar la expresión de proteína PD-L1 en ensayos IHC de secciones de tejido tumoral. Véase, p.ej., Thompson, R. H., et al., PNAS 101 (49): 17174-17179 (2004); Thompson, R. H. et al., Cancer Res. 66: 3381-3385 (2006); Gadiot, J., et al., Cancer 117: 2192-2201 (2011); Taube, J. M. et al., Sci Transl Med 4, 127ra37 (2012); y Toplian, S. L. et al., New Eng. J Med. 366 (26): 2443-2454 (2012).

15 Una estrategia emplea un único punto final binario de positivo o negativo para la expresión de PD-L1, estando el resultado positivo definido en términos del porcentaje de células tumorales que exhiben evidencia histológica de tinción de membrana de superficie celular. Una sección de tejido tumoral se contabiliza como positivo de expresión de PD-L1 con al menos el 1%, y preferiblemente el 5%, del total de células tumorales.

20 En otra estrategia, se cuantifica la expresión de PD-L1 en la sección de tejido tumoral se cuantifica tanto en las células tumorales como en células inmunes infiltradas, que comprenden de forma predominante linfocitos. El porcentaje de células tumorales y de células inmunes infiltradas que presentan tinción de membrana se cuantifica de forma separada como <5%, de 5 a 9%, y a partir de ahí en incrementos de 10% hasta 100%. Para las células tumorales, la expresión de PD-L1 se contabiliza como negativa si la puntuación es <5% y como positiva si la puntuación es ≥ 5%. La expresión de PD-L1 en el infiltrado inmune se presenta como una medida semi-cuantitativa denominada puntuación de

inflamación ajustada (AIS, del inglés “adjusted inflammation score”), que se determina multiplicando el porcentaje de células con tinción de membrana por la intensidad del infiltrado, que se gradúa como nula (0), ligera (puntuación de 1, linfocitos escasos), moderada (puntuación de 2, infiltración focal de tumor por agregados linfohistiocíticos), o severa (puntuación de 3, infiltración difusa). Una sección de tejido tumoral es contabilizada como positiva para expresión de PD-L1 por infiltrados inmunes si la AIS es  $\geq 5$ .

El nivel de expresión de ARNm de PD-L puede compararse con los niveles de expresión de ARNm de uno o más genes de referencia que se usan frecuentemente en RT-PCR cuantitativa, tales como ubiquitina C.

En la presente memoria se describe que un nivel de expresión de PD-L1 (proteína y/o ARNm) por parte de células malignas y/o por parte de células inmunes infiltradas dentro de un tumor se determina como “sobrexpresado” o “elevado” en base a una comparación con el nivel de expresión de PD-L1 (proteína y/o ARNm) por parte de un control apropiado. Por ejemplo, un nivel de expresión de proteína o ARNm de PD-L1 de control puede ser el nivel cuantificado en células no malignas del mismo tipo o en una sección procedente de un tejido normal equivalente. En algunas realizaciones, la expresión de PD-L1 en una muestra tumoral se determina que es elevada si la proteína PD-L1 (y/o el ARNm de PD-L1) de la muestra es superior al control en al menos un 10%, 20% o 30%.

“Criterios de respuesta RECIST 1.1” tal como se usa en la presente memoria significa las definiciones establecidas en Eisenhauer et al., E.A. et al., Eur. J Cancer 45: 228-247 (2009) para lesiones diana o para lesiones no diana, según sea apropiado en base al contexto en el que se está midiendo la respuesta.

“Respuesta sostenida” significa un efecto terapéutico sostenido tras el cese del tratamiento con un agente terapéutico, o con una terapia de combinación descrita en la presente memoria. En algunas realizaciones, la respuesta sostenida tiene una duración que es al menos igual a la duración del tratamiento, o al menos 1,5, 2,0, 2,5 o 3 veces superior a la duración del tratamiento.

Los términos “sinergia” o “sinérgico” se usan para indicar que la respuesta de la combinación de los dos agentes es mayor que la suma de cada respuesta de agente individual. Más específicamente, en la determinación *in vitro* una medida de sinergia es conocida como “sinergia Bliss”. La sinergia Bliss se refiere al “exceso sobre la independencia Bliss”, según se determina a partir del valor Bliss definido anteriormente. Cuando el valor Bliss es superior a cero (0), o más preferiblemente superior a 0,2, se considera indicativo de sinergia. Por supuesto, el uso de “sinergia” en la presente memoria también abarca la sinergia *in vitro* determinada mediante métodos adicionales y/o alternativos. Las referencias en la presente memoria a efectos biológicos *in vitro* de una combinación, que incluyen, aunque sin limitación, efectos anti-cáncer, que son superiores, o iguales, a la suma de los componentes de la combinación individualmente, se pueden correlacionar con los valores Bliss. Nuevamente, el uso de “sinergia” en la presente memoria, que incluye si una combinación de componentes demuestra actividad igual o superior a la suma de los componentes individualmente, puede medirse mediante métodos adicionales y/o alternativos, y son conocidos, o serán evidentes, para los especialistas en la técnica.

“Sección de tejido” se refiere a una parte o pieza individual de una muestra de tejido, p.ej., una lámina delgada de corte de tejido procedente de una muestra de un tejido normal o de un tumor.

“Tratar” un cáncer o “tratamiento” de un cáncer tal como se usa en la presente memoria significa administrar una terapia de combinación de un antagonista de PD-1 y un agonista de 4-1BB a un sujeto que tiene un cáncer, o que ha sido diagnosticado con un cáncer, para alcanzar al menos un efecto terapéutico positivo, tal como por ejemplo, una reducción del número de células cancerosas, una reducción del tamaño tumoral, una reducción de la tasa de infiltración de células cancerosas en órganos periféricos, o una reducción de la velocidad de metástasis tumoral o de crecimiento tumoral. Los efectos terapéuticos positivos en cáncer se pueden medir de diversas formas (véase, W. A. Weber, J. Nucl. Med. 50: 1S-10S (2009)). Por ejemplo, con respecto a la inhibición del crecimiento tumoral, según los estándares NCI, un valor T/C  $\leq 42\%$  es el nivel mínimo de actividad anti-tumoral. Un valor T/C  $> 10\%$  se considera un nivel elevado de actividad anti-tumoral, siendo  $T/C (\%) = \text{Volumen tumoral medio del tratado} / \text{volumen tumoral medio del control} \times 100$ . En algunas realizaciones, el tratamiento alcanzado mediante una combinación de la invención es cualquiera de PR, CR, OR, PFS, DFS y OS. El PFS, también denominado “tiempo para progresión tumoral” (del inglés “Time to Tumor Progression”) indica el periodo de tiempo durante y después del tratamiento en el que el cáncer no crece, e incluye la cantidad de tiempo que los pacientes han experimentado CR o PR, así como la cantidad de tiempo que los pacientes han experimentado SD. DFS se refiere al periodo de tiempo durante y después del tratamiento durante el cual el paciente permanece libre de enfermedad. OS se refiere a una prolongación de la esperanza de vida en comparación con individuos o pacientes inocentes o no tratados. En algunas realizaciones, la respuesta a una combinación de la invención es cualquiera de PR, CR, PFS, DFS, OR u OS que se determine usando los criterios de respuesta RECIST 1.1. El régimen de tratamiento para una combinación de la invención que es efectiva para tratar un paciente de cáncer puede variar de acuerdo a factores tales como el estado de enfermedad, la edad y el peso del paciente, y la capacidad de la terapia para provocar una respuesta anti-cáncer en el sujeto. Aunque una realización de cualquiera de los aspectos de la invención puede no ser efectiva para alcanzar un efecto terapéutico positivo en todos los sujetos, sí debería serlo en un número estadísticamente significativo de sujetos, determinado mediante cualquier evaluación estadística conocida en la técnica, tal con el test de t de Student, el test  $\chi^2$ , el test U según Mann y Whitney, el test Kruskal-Wallis (test H), el test Jonkheere-Terpstra y el test Wilcoxon.

Los términos “régimen de tratamiento”, “protocolo de dosis” y régimen de dosis se usan intercambiamente para referirse a la dosis y al calendario de administración de cada agente terapéutico de una combinación de la invención.

5 “Tumor” tal como se aplica a un sujeto diagnosticado con un cáncer, o que se sospecha que tiene un cáncer, se refiere a un neoplasma o masa de tejido maligno o potencialmente maligno de cualquier tamaño, e incluye tumores primarios y neoplasmas secundarios. Un tumor sólido es un crecimiento anormal o una masa de tejido que normalmente no contiene quistes o áreas de líquido. Los diferentes tipos de tumores sólidos se nombran por el tipo de células que los forman. Ejemplos de tumores sólidos son los sarcomas, carcinomas y linfomas. Las leucemias (cánceres de la sangre) generalmente no forman tumores sólidos (National Cancer Institute, Dictionary of Cancer Terms).

10 “Malignidad tumoral sólida avanzada” y “tumor sólido avanzado” se usan de forma intercambiable para referirse a un tumor que ha resurgido, progresado, metastatizado, avanzado localmente y/o que es refractario, después del tratamiento inicial o de primera línea. Los tumores sólidos avanzados incluyen, aunque sin limitación, tumores metastásicos en hueso, cerebro, mama, hígado, pulmones, nodos linfáticos, páncreas, próstata y tejido blando (sarcoma).

15 “Carga tumoral” se refiere a la cantidad total de material tumoral distribuido por todo el cuerpo. La carga tumoral se refiere al número total de células cancerosas o al tamaño total de tumor(es), por todo el cuerpo, incluyendo nodos linfáticos y médula ósea. La carga tumoral se puede determinar mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, tal como, p.ej., midiendo las dimensiones del tumor(es) tras extirpación del sujeto, p.ej., usando calibres, o dentro del cuerpo usando técnicas de imagen, p.ej., ultrasonidos, escáner óseo, escáneres de tomografía computarizada (CT) o de imagen de resonancia magnética (MRI).

20 El término “tamaño tumoral” se refiere al tamaño total del tumor que puede medirse a través de la longitud y la anchura de un tumor. El tamaño tumoral puede determinarse mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, tal como, p.ej., midiendo las dimensiones del tumor(es) tras extirpación del sujeto, p.ej., usando un calibre, o dentro del cuerpo usando técnicas de imagen, p.ej., escáner óseo, ultrasonidos, escáneres CT o MRI.

25 4-1BB comprende una secuencia señal (residuos de aminoácido 1-17), seguida de un dominio extracelular (169 aminoácidos), una región transmembrana (27 aminoácidos), y un dominio intracelular (42 aminoácidos) (Cheuk ATC et al. 2004 Cancer Gene Therapy 11: 215-226). El receptor se expresa sobre la superficie celular en formas monoméricas y dimericas y probablemente trimeriza con ligando 4-1BB para señalizar.

30 4-1BB es indetectable sobre la superficie de células T inocentes pero la expresión aumenta tras la activación. Tras la activación de 4-1BB, TRAF 1 y TRAF 2, que son miembros pro-supervivencia de la familia de factor asociado a TNFR (TRAF), son reclutados a la cola citoplásmica de 4-1BB, dando como resultado la activación aguas debajo de NFkB y de la cascada de proteína quinasa activada por mitógeno (MAP) que incluye las quinasas MAP Erk, Jnk y p38. La activación de NFkB conduce a la regulación al alza de Bfl-1 y Bcl-XL, miembros pro-supervivencia de la familia Bcl-2. La proteína pro-apoptótica Bim es regulada a la baja de un modo dependiente de TRAF1 y Erk (24).

35 Los términos “4-1BB” y “receptor de 4-1BB” se usan de forma intercambiable en la presente solicitud, y se refieren a cualquier forma de receptor de 4-1BB, así como a variantes, isoformas y especies homólogas de la misma que retienen al menos una parte de la actividad del receptor de 4-1BB. Por consiguiente, una molécula de unión, tal como se define y se describe en la presente memoria, también puede unirse a 4-1BB en especies diferentes a la humana. En otros casos, una molécula de unión puede ser completamente específica para la 4-1BB humana y puede no exhibir especies u otros tipos de reactividad cruzada. A menos que se indique otra cosa, tal como en referencia específica a 4-1BB humana, la 4-1BB incluye todas las especies de mamífero de secuencia nativa 4-1BB, p.ej., humano, canino, felino, equino y bovino. Un ejemplo de 4-1BB humana es una proteína de 255 aminoácidos (nº de acceso NM\_001561; NP\_001552). En la SEQ ID NO: 26 se proporciona una realización de una secuencia de aminoácido 4-1BB humana completa.

45 “Agonista de 4-1BB” tal como se usa en la presente memoria significa cualquier compuesto químico o molécula biológica, tal como se define en la presente memoria, que al unirse a 4-1BB, (1) estimula o activa la 4-1BB, (2) potencia, aumenta, promueve, induce o prolonga una actividad, función o presencia de 4-1BB, o (3) potencia, aumenta, promueve o induce la expresión de 4-1BB.

50 Los agonistas de 4-1BB útiles en cualquiera de los medicamentos y usos de la presente invención incluyen un anticuerpo monoclonal (mAb), o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a 4-1BB. Los nombres alternativos o sinónimos para 4-1BB incluyen CD137 y TNFRSF9. En cualquiera de los medicamentos y usos de la presente invención donde se esté tratando a un individuo humano, los agonistas de 4-1BB aumentan la respuesta mediada por 4-1BB. En algunas realizaciones de los medicamentos y usos de la presente invención, los agonistas de 4-1BB potencian de forma destacada las respuestas de células T citotóxicas, dando como resultado una actividad anti-tumoral en varios modelos.

55 El mAb puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico, y puede incluir una región constante humana. En algunas realizaciones, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en las regiones constantes de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, y en algunas realizaciones, la región constante humana es

una región constante de IgG1 o de IgG4. En algunas realizaciones, el fragmento de unión a antígeno se selecciona del grupo que consiste en los fragmentos Fab, Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>, scFv y Fv.

Los ejemplos de mAbs que se unen a 4-1BB humana, y útiles en los medicamentos y usos de la presente invención, se describen en los documentos US 8.337.850 y US 2013-0078240. Los mAbs anti-4-1BB humana específicos útiles como agonistas de 4-1BB en los medicamentos y usos de la presente invención incluyen el PF-05082566. El PF-05082566 es un anticuerpo monoclonal agonista de IgG2 completamente humanizado dirigido contra 4-1BB.

En algunas realizaciones de los medicamentos y usos de la presente invención, el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende: (a) las CDRs de cadena ligera de las SEQ ID NOs: 30, 31 y 32, y las CDRs de cadena pesada de las SEQ ID NOs: 27, 28 y 29.

En algunas realizaciones de los medicamentos y usos de la presente invención, el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a 4-1BB humana y que comprende (a) una región variable de cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 33 o una variante de la misma, y (b) una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 34 o una variante de la misma. Una variante de una secuencia de región variable de cadena pesada es idéntica a la secuencia de referencia excepto en que tiene hasta 17 sustituciones de aminoácido conservativas en la región estructural (es decir, fuera de las CDRs), y preferiblemente menos de diez, nueve, ocho, siete, seis o cinco sustituciones de aminoácido conservativas en la región estructural. Una variante de la secuencia de región variable de cadena ligera es idéntica a la secuencia de referencia excepto en que tiene hasta cinco sustituciones de aminoácido conservativas en la región estructural (es decir, fuera de las CDRs), y preferiblemente menos de cuatro, tres o dos sustituciones de aminoácido conservativas en la región estructural.

En la presente memoria se describe que el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a 4-1BB humana y que comprende (a) una secuencia de aminoácidos de cadena pesada como la establecida en la SEQ ID NO: 35, y (b) una secuencia de aminoácidos de cadena ligera como la establecida en la SEQ ID NO: 36, con la condición de que el residuo de lisina C-terminal de la SEQ ID NO: 35 opcionalmente esté ausente.

Debe entenderse que en cualquier parte donde las realizaciones se describen en la presente memoria con el lenguaje "que comprende", también se proporcionan realizaciones análogas descritas por los términos de "que consisten en" y/o "que consisten esencialmente en".

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado utilizado habitualmente por los especialistas en la técnica a la que pertenece esta invención. En caso de conflicto, prevalecerá la presente especificación, incluyendo las definiciones. A lo largo de esta especificación y de las reivindicaciones, la palabra "comprender", o variaciones tales como "comprende" o "que comprende" se entenderá que implican la inclusión de un número entero o de un grupo de números enteros enunciados, pero no la exclusión de ningún otro número entero o grupo de números enteros. A menos que el contexto requiera lo contrario, los términos en singular incluirán pluralidades y los términos en plural incluirán el singular. Cualquier ejemplo(s) que acompañen al término "p.ej." o "por ejemplo" no pretende(n) ser exhaustivo(s) o limitativo(s).

En la presente memoria se describen ejemplos de métodos y materiales, aunque también se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria para llevar a la práctica o para ensayar la presente invención. Los materiales, métodos y ejemplos son meramente ilustrativos y no se pretende que sean limitativos.

## II. Métodos, usos y medicamentos

En un aspecto de la invención, la invención proporciona una terapia de combinación que comprende un antagonista de PD-1 y un agonista de 4-1BB para uso en el tratamiento de cáncer.

La terapia de combinación también puede comprender uno o más agentes terapéuticos adicionales. El agente terapéutico adicional puede ser, p.ej., un agente quimioterapéutico, un agente bioterapéutico (que incluye, aunque sin limitación, anticuerpos de VEGF, VEGFR, EGFR, Her2/neu, otros receptores de factor de crecimiento, CD20, CD40, CD-40L, CTLA-4, OX-40, 4-1BB e ICOS), un agente inmunogénico (por ejemplo, células cancerosas atenuadas, antígenos tumorales, células presentadoras de antígeno tales como células dendríticas pulsadas con antígeno derivado de tumor o ácidos nucleicos, citocinas estimulantes inmunitarias (por ejemplo, IL-2, IFN $\alpha$ 2, GM-CSF), y células transfectadas con genes que codifican citocinas estimulantes inmunitarias tales como, aunque sin limitación, GM-CSF).

Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclosfosfamida; sulfonatos de alquilo tales como busulfan, improsulfan y piposulfan; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietileno fosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); una camptotecina (que incluye el análogo sintético topotecan); briostatina; callistatina; CC-1065 (que

incluye sus análogos sintéticos de adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (que incluye los análogos sintéticos, KW-2189 y CBI-TMI); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiestatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clomafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, hidrocloreto de óxido de mecloretamina, melfalan, novembichin, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (p.ej., caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gamma11 y caliqueamicina phil1, ver, p.ej., Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994); dinemicina, que incluye dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos relacionados de antibiótico de cromoproteína enediina), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (que incluye morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, encitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglucetimidina, mitotano, trilostano; reponedores de ácido fólico tales como ácido frofílico; aceglatona; glicósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; acetato de eliptinio; una epitolona; etoglucid; nitrato de galio; hidroxurea; lentinan; lonidamina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; razoxano; rizoxina; sizofuran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; mannomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, p.ej. paclitaxel y docetaxel; clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etoposide (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; novantrona; teniposide; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilomitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se incluyen agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción de hormonas sobre tumores, tales como anti-estrógenos y moduladores de receptor de estrógeno selectivos (SERMs), que incluyen, por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona, y toremifeno (Fareston); inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógeno en las glándulas adrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglucetimidina, acetato de megestrol, exemestano, formestano, fadrozol, vorozol, letrozol y anastrozol; y anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolide, y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Cada agente terapéutico de una terapia de combinación de la invención puede administrarse solo o en un medicamento (también referido en la presente memoria como composición farmacéutica) que comprende el agente terapéutico y uno o más vehículos, excipientes y diluyentes farmacéuticamente aceptables, de acuerdo a la práctica farmacéutica estándar.

Cada agente terapéutico de una terapia de combinación de la invención puede administrarse simultáneamente (p.ej., en el mismo medicamento o al mismo tiempo), concurrentemente (es decir, en medicamentos separados administrados uno después del otro en cualquier orden o secuencialmente en cualquier orden. La administración secuencial es particularmente útil cuando los agentes terapéuticos de la terapia de combinación están en diferentes formas de dosis (un agente es un comprimido o cápsula y otro agente es un líquido estéril) y/o se administran en diferentes calendarios de dosis, p.ej., un agente quimioterapéutico que es administrado al menos diariamente y un agente bioterapéutico que es administrado menos frecuentemente, tal como una vez a la semana, una vez cada dos semanas, o una vez cada tres semanas.

Las unidades de dosis pueden expresarse en mg/kg (es decir, mg/kg de peso corporal) o en mg/m<sup>2</sup>. Las unidades de dosis de mg/m<sup>2</sup> se refieren a la cantidad en miligramos por metro cuadrado de área superficial del cuerpo.

En algunos casos, el antagonista de PD-1 y el agonista de 4-1BB se combinan o se formulan conjuntamente en una única forma de dosis.

Aunque la administración simultánea del antagonista de PD-1 y el agonista de 4-1BB se puede mantener a lo largo de un periodo de tratamiento o prevención, la actividad anti-cancerígena también se puede lograr mediante la administración posterior de un compuesto en aislamiento (por ejemplo, el antagonista de PD-1 sin el agonista de 4-1BB, después del tratamiento de combinación, o alternativamente el agonista de 4-1BB, sin antagonista de PD-1, después del tratamiento de combinación).

En algunos casos, el agonista de 4-1BB se administra antes de la administración del antagonista de PD-1, mientras que en otras realizaciones, el agonista de 4-1BB se administra después de la administración del antagonista de PD-1.

5 En algunos casos, al menos uno de los agentes terapéuticos de la terapia de combinación se administra usando el mismo régimen de dosis (nivel de dosis, frecuencia y duración del tratamiento) que se emplea típicamente cuando el agente se usa como monoterapia para tratar el mismo cáncer. En otros casos, el paciente recibe una menor cantidad total de al menos uno de los agentes terapéuticos de la terapia de combinación que cuando el agente se usa como monoterapia, p.ej., dosis menores, dosis menos frecuentes y/o una duración más corta del tratamiento.

10 Se puede usar una terapia de combinación de la invención antes, o después, de una cirugía para extirpar un tumor, y puede usarse antes, durante o después de una terapia de radiación.

15 En algunos casos, se administra una terapia de combinación de la invención a un paciente que no ha sido tratado previamente con un agente bioterapéutico o quimioterapéutico, es decir, es nuevo para el tratamiento. En otros casos, la terapia de combinación se administra a un paciente que no ha conseguido alcanzar una respuesta sostenida después de una terapia previa con un agente bioterapéutico o quimioterapéutico, es decir, tiene experiencia de tratamiento.

20 Una terapia de combinación de la invención se usa típicamente para tratar un tumor que es suficientemente grande para ser detectado mediante palpación o mediante técnicas de imagen bien conocidas en la técnica, tal como MRI, ultrasonidos o escáner CAT. En algunos casos, una terapia de combinación de la invención se usa para tratar un tumor es estadio avanzado que tiene unas dimensiones de al menos aproximadamente 200 mm<sup>3</sup>, 300 mm<sup>3</sup>, 400 mm<sup>3</sup>, 500 mm<sup>3</sup>, 750 mm<sup>3</sup>, o hasta 1000 mm<sup>3</sup>.

25 Una terapia de combinación de la invención se administra preferiblemente a un paciente humano que tiene un cáncer que expresa PD-L1 o que da positivo para expresión de PD-L1. En la presente memoria se describe que la expresión de PD-L1 se detecta usando un anticuerpo anti-PD-L1 humana diagnóstico, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en un ensayo IHC de una sección de tejido FFPE o congelada de una muestra de tumor tomada del paciente. Típicamente, el médico del paciente solicitaría un ensayo diagnóstico para determinar la expresión de PD-L1 en una muestra de tejido tumoral extraída del paciente antes de iniciar el tratamiento con el antagonista de PD-1 y el agonista de 4-1BB, pero se contempla que el médico podría solicitar el primer ensayo diagnóstico y los subsiguientes en cualquier momento después del inicio del tratamiento, tal como por ejemplo después de completar un ciclo de tratamiento.

30 El régimen de dosis puede adaptarse a las condiciones particulares del paciente, a la respuesta y a tratamientos asociados, del modo convencional para cualquier terapia, y puede necesitar ser ajustado en respuesta a los cambios observados en las condiciones y/o a la vista de otras condiciones clínicas.

35 La selección de un régimen de dosis (también denominado en la presente memoria como régimen de administración) para una terapia de combinación depende de varios factores, que incluyen la tasa regeneración de suero o tejido de la entidad, el nivel de síntomas, la inmunogenicidad de la entidad, y la accesibilidad de las células, tejido u órgano diana en el individuo en tratamiento. Preferiblemente, un régimen de dosis maximiza la cantidad de cada agente terapéutico administrado al paciente, en consistencia con un nivel aceptable de efectos secundarios. Por consiguiente, la cantidad de dosis y la frecuencia de dosis de cada agente bioterapéutico y quimioterapéutico de la combinación depende en parte del agente terapéutico particular, de la gravedad del cáncer en tratamiento, y de las características del paciente. Se dispone de guías para seleccionar las dosis apropiadas de anticuerpos, citocinas y moléculas pequeñas. Véase, p.ej., Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, R.U.; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, Nueva York, NY; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, Nueva York, NY; Baert et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348: 601-608; Milgrom et al. (1999) *New Engl. J. Med.* 341: 1966-1973; Slamon et al. (2001) *New Engl. J. Med.* 344: 783-792; Beniaminovitz et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 342: 613-619; Ghosh et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348: 24-32; Lipsky et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 343: 1594-1602; *Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 57<sup>a</sup> Ed)*; Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 57<sup>a</sup> edición (Noviembre 2002). El médico responsable puede realizar la determinación del régimen de dosis apropiado, p.ej., usando parámetros o factores que se sabe, o que se sospecha, que afectan al tratamiento o que se predice que afectan al tratamiento, y dependerá, por ejemplo, del historial clínico del paciente (p.ej., terapias previas), del tipo y estadio del cáncer a tratar y de los biomarcadores de respuesta a uno o más de los agentes terapéuticos de la terapia de combinación.

55 Los agentes bioterapéuticos de una terapia de combinación pueden administrarse por infusión continua, o en dosis a intervalos, p.ej., diariamente, cada dos días, tres veces por semana, o una vez cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, mensualmente, cada dos meses, etc. Una dosis total semanal generalmente es al menos de 0,05 µg/kg, 0,2 µg/kg, 0,5 µg/kg, 1 µg/kg, 10 µg/kg, 100 µg/kg, 0,2 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg de peso corporal o más. Véase, p.ej., Yang et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 349: 427-434; Herold et al. (2002) *New Engl. J. Med.* 346: 1692-1698; Liu et al. (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67: 451-456; Portielji et al. (20003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52: 133-144.

En algunos regímenes de dosis que emplean un mAb anti-PD-1 humana como antagonista de PD-1 en la terapia de combinación, el régimen de dosis comprenderá la administración del mAb anti-PD-1 humana en una dosis de 1, 2, 3, 5 o 10 mg/kg a intervalos de aproximadamente 14 días ( $\pm$  2 días) o de aproximadamente 21 días ( $\pm$  2 días) o de aproximadamente 30 días ( $\pm$  2 días) a lo largo del curso del tratamiento.

5 En otros regímenes de dosis que emplean un mAb anti-PD-1 humana como antagonista de PD-1 en la terapia de combinación, el régimen de dosis comprenderá la administración del mAb anti-PD-1 humana en una dosis de entre aproximadamente 0,005 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg, con una escalada de dosis intra-paciente. En otras realizaciones de dosis en escalada, el intervalo entre dosis se acortará progresivamente, p.ej., de aproximadamente 30 días ( $\pm$  2 días) entre la primera y la segunda dosis, de aproximadamente 14 días ( $\pm$  2 días) entre la segunda y  
10 tercera dosis. En determinadas realizaciones, el intervalo de dosis será de aproximadamente 14 días ( $\pm$ 2 días), para las dosis posteriores a la segunda dosis.

En la presente memoria se describe que se administrará a un sujeto una infusión intravenosa (IV) de un medicamento que comprende cualquiera de los antagonistas de PD-1 descritos en la presente memoria.

15 En la presente memoria se describe que el antagonista de PD-1 en la terapia de combinación es nivolumab, que se administra intravenosamente en una dosis seleccionada del grupo que consiste en: 1 mg/kg Q2W, 2 mg/kg Q2W, 3 mg/kg Q2W, 5 mg/kg Q2W, 10 mg Q2W, 1 mg/kg Q3W, 2 mg/kg Q3W, 3 mg/kg Q3W, 5 mg/kg Q3W, y 10 mg Q3W.

20 En la presente memoria se describe que el antagonista de PD-1 en la terapia de combinación es MK-3475, que se administra en un medicamento líquido en una dosis seleccionada del grupo que consiste en 1 mg/kg Q2W, 2 mg/kg Q2W, 3 mg/kg Q2W, 5 mg/kg Q2W, 10 mg Q2W, 1 mg/kg Q3W, 2 mg/kg Q3W, 3 mg/kg Q3W, 5 mg/kg Q3W, y 10 mg Q3W. En algunas realizaciones, MK-3475 se administra como un medicamento líquido que comprende 25 mg/mL de MK-3475, 7% (p/v) de sacarosa, 0,02% (p/v) de polisorbato 80 en tampón de histidina 10 mM pH 5,5, y la dosis seleccionada del medicamento se administra mediante infusión IV a lo largo de un periodo de tiempo de aproximadamente 30 minutos.

25 En la presente memoria se describe que el régimen de dosis comprenderá la administración del agonista de 4-1BB a en una dosis de 1, 2, 3, 5 o 10 mg/kg a intervalos de aproximadamente 14 días ( $\pm$  2 días) o de aproximadamente 21 días ( $\pm$  2 días) o de aproximadamente 30 días ( $\pm$  días) a lo largo del curso del tratamiento.

30 En la presente memoria se describe que el régimen de dosis comprenderá la administración del agonista de 4-1BB en una dosis de entre aproximadamente 0,005 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg, con una escalada de dosis intra-paciente. En otras realizaciones de dosis en escalada, el intervalo entre dosis se acortará progresivamente, p.ej., de aproximadamente 30 días ( $\pm$  2 días) entre la primera y la segunda dosis, de aproximadamente 14 días ( $\pm$  2 días) entre la segunda y tercera dosis. En determinadas realizaciones, el intervalo de dosis será de aproximadamente 14 días ( $\pm$ 2 días), para las dosis posteriores a la segunda dosis.

35 En la presente memoria se describe que el agonista de 4-1BB en la terapia de combinación es PF-05082566, que se administra en un medicamento líquido a una dosis seleccionada del grupo que consiste en 1 mg/kg Q2W, 2 mg/kg Q2W, 3 mg/kg Q2W, 5 mg/kg Q2W, 10 mg Q2W, 1 mg/kg Q3W, 2 mg/kg Q3W, 3 mg/kg Q3W, 5 mg/kg Q3W, y 10 mg Q3W. En algunas realizaciones, el PF-05082566 se administra como un medicamento líquido, y la dosis seleccionada del medicamento se administra mediante infusión IV a lo largo de un periodo de aproximadamente 60 minutos.

La dosis óptima para MK-3475 en combinación con PF-05082566 puede identificarse mediante una escalada de dosis de uno o ambos de dichos agentes.

40 En la presente memoria se describe que el MK-3475 se administra en una dosis inicial de 2 mg/kg Q2W y el PF-05082566 se administra Q4W en una dosis inicial de 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 1,2 mg/kg, 2,4 mg/kg o 5 mg/kg.

En la presente memoria se describe que el MK-3475 se administra en una dosis inicial de 2 mg/kg Q3W y el PF-05082566 se administra Q3W en una dosis inicial de 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 1,2 mg/kg, 2,4 mg/kg o 5 mg/kg.

45 En la presente memoria se describe que el PF-05082566 se administra en una dosis inicial de 0,6 mg/kg Q4W y el MK-3475 se administra en una dosis inicial de 10 mg/kg Q2W, y si la combinación de dosis inicial no es tolerada por el paciente, entonces la dosis de MK-3475 se reduce a 2 mg/kg Q2W y/o la dosis de PF-05082566 se reduce a 0,3 mg/kg Q4W.

50 En una realización, el régimen de dosis es cualquier combinación de MK-3475 en una dosis seleccionada del grupo que consiste en 2 mg/kg q2wk y 10 mg/kg q2wk, y PF-05082566 en una dosis seleccionada del grupo que consiste en 1,2 mg/kg q4wk, 2,4 mg/kg q4wk y 5,0 mg/kg q4wk. Por ejemplo:

<b>MK-3475 (antagonista de PD-1)</b>	<b>y</b>	<b>PF-05082566 (agonista de 4-1BB)</b>
2 mg/kg q2wk	y	1,2 mg/kg q4wk

2 mg/kg q2wk	y	2,4 mg/kg q4wk
2 mg/kg q2wk	y	5,0 mg/kg q4wk
10 mg/kg q2wk	y	1,2 mg/kg q4wk
10 mg/kg q2wk	y	2,4 mg/kg q4wk
10 mg/kg q2wk	y	5,0 mg/kg q4wk

En la presente memoria se describe que niveles de dosis por debajo del límite inferior del rango anteriormente mencionado pueden ser más adecuados, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis todavía mayores, según determinan los especialistas en la técnica.

5 En la presente memoria se describe que un ciclo de tratamiento comienza con el primer día de tratamiento de combinación y dura 3 semanas o 4 semanas. En cualquier día de un ciclo de tratamiento en el que se administran conjuntamente los fármacos, la infusión IV de MK-3475 preferiblemente comienza 30 minutos después de completar la infusión de PF-05082566. Alternativamente, el MK-3475 se administra mediante infusión IV después de completar la infusión de PF-05082566. La invención también contempla la infusión IV simultánea de PF-05082566 y MK-3475.

10 En la presente memoria se describe que la terapia de combinación se administra preferiblemente durante al menos 12 semanas (tres ciclos de 4 semanas o cuatro ciclos de 3 semanas), más preferiblemente al menos 24 semanas, e incluso más preferiblemente al menos de 2 a 4 semanas después de que el paciente alcance una CR.

15 En la presente memoria se describe que el paciente seleccionado para el tratamiento con la terapia de combinación de la invención ha sido diagnosticado con un tumor maligno sólido avanzado. Preferiblemente, el paciente no ha recibido ninguna terapia sistémica previa para el tumor avanzado.

En la presente memoria se describe un medicamento que comprende un antagonista de PD-1 como se ha descrito previamente y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Cuando el antagonista de PD-1 es un agente bioterapéutico, p.ej., un mAb, el antagonista puede ser producido en células CHO usando un cultivo celular convencional y tecnologías de recuperación/purificación.

20 En la presente memoria se describe que un medicamento que comprende un anticuerpo anti-PD-1 como antagonista de PD-1 puede ser proporcionado en forma de formulación líquida, o puede prepararse reconstituyendo un polvo liofilizado con agua esterilizada para inyección antes de su uso. El documento WO 2012/135408 describe la preparación de medicamentos líquidos y liofilizados que comprenden MK-3475 que son adecuados para su uso en la presente invención. En algunas realizaciones, un medicamento que comprende MK-3475 se proporciona en un vial de vidrio que contiene aproximadamente 50 mg de MK-3475.

25 En la presente memoria se describe un medicamento que comprende un anticuerpo agonista de 4-1BB y un excipiente farmacéuticamente aceptable. El anticuerpo agonista de 4-1BB puede prepararse tal como se describe en la Patente de EE.UU. nº 8.337.850.

30 En la presente memoria se describe que el anticuerpo agonista de 4-1BB puede formularse a una concentración de 10 mg/mL para permitir la administración intravenosa (IV). La formulación comercial puede contener tampón de L-histidina con dihidrato de  $\alpha,\alpha$ -trehalosa, dihidrato disódico de ácido etilendiaminotetraacético y polisorbato 80 a pH 5,5.

35 Los medicamentos anti-PD-1 y 4-1BB descritos en la presente memoria pueden proporcionarse como un kit que comprende un primer recipiente y un segundo recipiente y unas instrucciones de envase. El primer recipiente contiene al menos una dosis de un medicamento que comprende un antagonista anti-PD-1, el segundo recipiente contiene al menos una dosis de un medicamento que comprende un agonista de 4-1BB, y las instrucciones de envase, o la etiqueta, que comprenden instrucciones para tratar un paciente de cáncer usando los medicamentos. El primer y el segundo recipientes pueden tener la misma o diferente forma (p.ej., viales, jeringas y botellas) y/o material (p.ej., plástico o vidrio). El kit puede comprender además otros materiales que pueden ser útiles para la administración de los medicamentos, tal como diluyentes, filtros, bolsas y líneas IV, agujas y jeringas. En algunas realizaciones del kit, el antagonista anti-PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 y las instrucciones establece que los medicamentos están destinados para uso en el tratamiento de un paciente que tiene un cáncer y que ha dado positivo para la expresión de PD-L1 en un ensayo IHC.

### Métodos generales

45 Los métodos estándar de biología molecular se describen en Sambrook, Fritsch y Maniatis (1982 y 1989 2ª Edición, 2001 3ª Edición) "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook y Russell (2001) "Molecular Cloning", 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) "Recombinant DNA", Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). También se pueden encontrar métodos estándar en Ausbel, et al. (2001) "Current Protocols in Molecular Biology", Vols.1-4, John Wiley and Sons, Inc. Nueva York, NY, que describe la clonación en células bacterianas y la mutagénesis de ADN (Vol. 1), la clonación

en células de mamífero y levadura (Vol. 2), glicoconjugados y expresión de proteínas (Vol. 3), y bioinformática (Vol. 4).

Los métodos para la purificación de proteínas, incluyendo la inmunoprecipitación, la cromatografía, la electroforesis, la centrifugación y la cristalización, se describen en Coligan, et al. (2000) "Current Protocols in Protein Science", Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York. Los análisis químicos, la modificación química, la modificación post-traduccional, la producción de proteínas de fusión, la glicosilación de proteínas se describen, p.ej., en Coligan, et al. (2000) "Current Protocols in Protein Science", Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York; Ausubel, et al. (2001) "Current Protocols in Molecular Biology", Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) "Products for Life Science Research", St. Louis, MO; pp. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) BioDirectory, Piscataway, N.J., pp. 384-391. La producción, purificación y fragmentación de anticuerpos policlonales y monoclonales se describe en Coligan, et al. (2001) "Current Protocols in Immunology", Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York; Harlow and Lane (1999) "Using Antibodies", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow and Lane, ver anterior. Las técnicas estándar para la caracterización de las interacciones ligando/receptor están disponible, p.ej., en Coligan, et al. (2001) "Current Protocols in Immunology", Vol. 4, John Wiley, Inc., Nueva York.

Se pueden preparar anticuerpos monoclonales, policlonales y humanizados (véase, p.ej., Sheperd y Dean (eds.) (2000) "Monoclonal Antibodies", Oxford Univ. Press, Nueva York, NY; Kontermann y Dubel (eds.) (2001) "Antibody Engineering", Springer-Verlag, Nueva York; Harlow y Lane (1988) "Antibodies A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenter, et al. (2000) J. Immunol. 165: 6205; He, et al. (1998) J. Immunol. 160: 1029; Tang et al. (1999) J. Biol. Chem. 274: 27371-27378; Baca et al. (1997) J. Biol. Chem. 272: 10678-10684; Chothia et al. (1989) Nature 342: 877-883; Foote y Winter (1992) J. Mol. Biol. 224: 487-499; Patente de EE.UU. nº 6.329.511).

Una alternativa a la humanización es usar bibliotecas de anticuerpos humanos presentados en fagos o bibliotecas de anticuerpos humanos en ratones transgénicos (Vaughan et al. (1996) Nature Biotechnol. 14: 309-314; Barbas (1995) Nature Medicine 1: 837-839; Mendez et al. (1997) Nature Genetics 15: 146-156; Hoogenboom and Chames (2000) Immunol. Today 21: 371-377; Barbas et al. (2001) "Phage Display: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York; Kay et al. (1996) "Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual", Academic Press, San Diego, CA; de Bruin et al. (1999) Nature Biotechnol. 17: 397-399).

La purificación de antígeno no es necesaria para la generación de anticuerpos. Se puede inmunizar animales con células que portan el antígeno de interés. A continuación se pueden aislar esplenocitos de los animales inmunizados, y los esplenocitos se pueden fusionar con una línea de células de mieloma para producir un hibridoma (véase, p.ej., Meyaard et al. (1997) Immunity 7: 283-290; Wright et al. (2000) Immunity 13: 233-242; Preston et al., ver anterior; Kaithamana et al. (1999) J. Immunol. 163: 5157-5164).

Los anticuerpos se pueden conjugar, p.ej., con moléculas fármaco pequeñas, enzimas, liposomas, polietileno glicol (PEG). Los anticuerpos son útiles para terapia, diagnóstico, kit u otros propósitos, e incluyen anticuerpos acoplados, p.ej., a colorantes, radioisótopos, enzimas o metales, p.ej., oro coloidal (véase, p.ej., Le Doussal et al. (1991) J. Immunol. 146: 169-175; Gibellini et al. (1998) J. Immunol. 160: 3891-3898; Hsing and Bishop (1999) J. Immunol. 162: 2804-2811; Everts et al. (2002) J. Immunol. 168: 883-889).

Los métodos para citometría de flujo, que incluyen la clasificación celular activada por fluorescencia (FACS), están disponibles (véase, p.ej., Owens, et al. (1994) "Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice", John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) "Flow Cytometry", 2ª ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) "Practical Flow Cytometry", John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Los reactivos fluorescentes adecuados para modificar ácidos nucleicos, que incluyen cebadores y sondas de ácido nucleico, polipéptidos y anticuerpos, para uso, p.ej., como reactivos diagnósticos, están disponibles (Molecular Probes (2003) "Catalogue", Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) "Catalogue", St. Louis, MO).

Los métodos estándar de histología del sistema inmunitarios se describen, p.ej., en Muller-Harmelink (ed.) (1986) "Human Thymus: Histopathology and Pathology", Springer Verlag, Nueva York, NY; Hiatt, et al. (2000) "Color Atlas of Histology", Lippincott, Williams, y Wilkins, Phila, PA; Louis, et al. (2002) "Basic Histology: Text and Atlas", McGraw-Hill, Nueva York, NY.

Los paquetes de software y las bases de datos para determinar, p.ej., fragmentos antigénicos, secuencias líder, plegamientos de proteína, dominios funcionales, sitios de glicosilación y alineamientos de secuencia, están disponibles (véase, p.ej., GenBank, Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, et al. (2000) Bioinformatics 16: 741-742; Menne, et al. (2000) Bioinformatics Applications Note 16: 741-742; Wren, et al. (2002) Comput. Methods Programs Biomed. 68: 177-181; von Heijne (1983) Eur. J. Biochem. 133: 17-21; von Heijne (1986) Nucleic Acids Res. 14: 4683-4690).

## Ejemplos

**Ejemplo 1. Respuesta anti-tumoral de la administración concurrente de un antagonista de PD-1 y un agonista de 4-1BB en ratones portadores de tumor.**

Se cree que la expresión tumoral de PD-L1 puede limitar la capacidad de las células T citotóxicas para matar directamente las células tumorales. Por lo tanto, incluso si se usa un agonista de 4-1BB para estimular células T citotóxicas, capaces de reconocer dichos tumores, el PD-L1 expresado en las células tumorales puede regular a la baja la actividad de dichas células T estimuladas. Se usó un modelo de tumor de cáncer de colon MC38 de ratón resistente a anticuerpo agonista de 4-1BB, que expresa PD-L1, para proporcionar evidencias de la mejora de la actividad anti-tumoral al usar la combinación de un anticuerpo agonista de 4-1BB con un anticuerpo antagonista de PD-1 en comparación con un único agente.

Se implantó subcutáneamente en ratones C57BL6  $1 \times 10^6$  células de carcinoma de colon de ratón MC38. Se monitorizó el crecimiento tumoral y los animales fueron divididos aleatoriamente en cuatro grupos de 8 cuando los tumores alcanzaron un tamaño medio de  $150 \text{ mm}^3$  y fueron dosificados intraperitonealmente con vehículo (PBS), 1 mg/kg de un anticuerpo monoclonal agonista anti-41BB de ratón de rata (R&D Systems nº MAB9371), 10 mg/kg de un anticuerpo antagonista anti-PD-1 de ratón (Affymetrix eBioscience Clone RMP1-14), o la combinación simultánea de los dos cada 5 cinco días durante un total de dos dosis. El estudio finalizó cuando el tamaño de los tumores en los controles alcanzó  $1000 \text{ mm}^3$ . Tal como se muestra en la Figura 9, el tratamiento de combinación de animales con el agonista de 4-1BB más el antagonista de PD-1 dio como resultado una reducción del 63,2% del crecimiento tumoral en comparación con los controles de vehículo (test t no emparejado \*p = 0,0125). No se observó una inhibición significativa del crecimiento tumoral con ninguno de los agentes dosificados individualmente.

En coherencia con el mecanismo propuesto para la combinación, se observaron incrementos significativos de las células de memoria efectoras CD8+ y de las células productoras de IFN- $\gamma$  que responden al tumor en los bazo de los ratones tratados con la combinación (datos no mostrados). Adicionalmente, los datos toxicológicos preliminares en ratones sugieren que la toxicidad de un agonista anti-4-1BB no se ve aumentada por la adición de un antagonista anti-PD-1 (datos no mostrados).

**Ejemplo 2. Evaluación de la eficacia anti-tumoral y de la tolerabilidad de la administración simultánea de un antagonista de PD1 (mDX400) y un agonista de 4-1BB en ratones C57BL/6 portadores de tumor MC38.**

El modelo MC38 usado en estos estudios es un adenocarcinoma colorrectal de ratón singeneico a la cepa C57BL/6. Las células MC38 fueron cultivadas en medio DMEM suplementado con suero fetal bovino inactivado térmicamente al 10% y L-glutamina (2 mM) a 37°C. Usando una aguja 26G y una jeringa de  $1 \text{ cm}^3$ , ratones C57BL/6 hembra de 7-8 semanas de edad (Jackson Labs) fueron inoculados subcutáneamente en el costado inferior derecho con una única suspensión celular de  $1 \times 10^6$  células MC38 sub-confluentes de fase logarítmica, (del pasaje 4 *in vitro*) en un volumen de 0,1 mL de medio DMEM libre de suero.

Se midió el volumen tumoral y el peso corporal el día antes de la primera dosis y dos veces por semana después de eso, comenzando el primer día del tratamiento (Día 0). Se midió la longitud y la anchura del tumor usando calibres electrónicos y se determinó el volumen tumoral usando la fórmula Volumen ( $\text{mm}^3$ ) =  $0,5 \times \text{Longitud} \times \text{Anchura}^2$  donde la longitud es la dimensión mayor.

Cuando el volumen tumoral medio alcanzó un tamaño medio de  $145 \text{ mm}^3$ , los ratones con tamaños tumorales medios equivalentes fueron distribuidos aleatoriamente en 5 grupos de tratamiento (Tabla 4) con 12 animales por grupo. (1) 5 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo IgG1 monoclonal de ratón [64AFW] específico de hexón adenovírico 25 (Merck Research Labs, Palo Alto), (2) 10 mg/kg de anticuerpo de control de isotipo IgG1 monoclonal anti-ratón de rata [67ABW] específico de IL-4 humana (Merck Research Labs, Palo Alto), (3) 10 mg/kg de un anticuerpo monoclonal agonista de 41BB (anti-CD137) anti-ratón de rata [04AFR] (BioXcell#BE0169), (4) 5 mg/kg de un anticuerpo antagonista anti-PD-1 de ratón monoclonal (mDX400) [78AFS] (Merck Research Labs, Palo Alto), y (5) combinación simultánea del anticuerpo agonista anti-41BB de ratón [04AFR] y anticuerpo antagonista anti-PD-1 de ratón (mDX400) [78AFS]. Los animales fueron dosificados intraperitonealmente (IP) una vez cada 5 días durante un total de 5 dosis. Los anticuerpos fueron disueltos en los siguientes tampones para inyección IP en los ratones: control de isotipo mIgG1 (fosfato 10 mM, NaCl 75 mM, 3% de sacarosa, pH 7,4); control de isotipo rIgG1 (NaAcetato 20 mM, 7% de sacarosa, pH 5,5); anti-41BB (PBS, pH 7,0); anti-PD-1 (Na acetato 20 mM, 9% de sacarosa, pH 5,5). El estudio finalizó 24 días después del inicio del tratamiento.

Tabla 4

Grupo	Materiales de ensayo	Dosis (mg/Kg)	Calendario de dosis	Ruta de administración	Tamaño de grupo
1	Control de isotipo de mIgG1 [64AFW]	5	q5dx5	i.p.	12

2	Control de isotipo de rIgG1 [67ABW]	10	q5dx5	i.p.	12
3	Anti-CD137m de rata (anti-4-1BB) [04AFR]	10	q5dx5	i.p.	12
4	Anti-PD-1 (muDX400) [78AFS]	5	q5dx5	i.p.	12
5	Anti-CD137m de rata (anti-4-1BB) [04AFR] (muDX400) [78AFS]	10 5	q5dx5 q5dx5	i.p. i.p.	12

5  
10  
Como demuestran los resultados de la Figura 12A-E, la combinación de un antagonista de PD-1 y de un agonista de 4-1BB demostró un aumento terapéutico drástico con un 100% de regresiones completas (CR), significativamente mayor que el observado en los grupos de tratamiento con un único agente, de tal modo que quedó ningún tumor detectable en 12 de 12 animales (Figura 12E). El tratamiento anti-PD-1 de agente único y el tratamiento anti-4-1BB de agente único mostraron un 33% de regresiones al finalizar el estudio, de tal modo que no quedaba ningún tumor detectable en 4 de 12 animales (Figura 12C, D). Para ilustrar mejor el efecto terapéutico sinérgico de la combinación de un antagonista de PD-1 y un agonista de 4-1BB, las Figuras 12F, G y H muestran el volumen tumoral con un valor máximo de 1000 mm<sup>3</sup>. Se determinó la significación estadística de las respuestas a los diferentes tratamientos usando un test de Fisher por pares exacto, y los resultados comparativos de los volúmenes tumorales en el Día 21 se muestran a continuación en la Tabla 5A-E.

Tabla 5A

Pares de tratamiento	Volumen tumoral (Día 21)			Valor p
	No cero	Cero	Total	
Isotipo r	12	0	12	0,0932
10 mpk CD137 (4-1BB)	8	4	12	
Total	20	4	24	

Tabla 5B

Pares de tratamiento	Volumen tumoral (Día 21)			Valor p
	No cero	Cero	Total	
Isotipo m	12	0	12	0,0932
5 mpk mDX400	8	4	12	
Total	20	4	24	

15

Tabla 5C

Pares de tratamiento	Volumen tumoral (Día 21)			Valor p
	No cero	Cero	Total	
5 mpk mDX400	8	4	12	1,000
10 mpk CD137 (4-1BB)	8	4	12	
Total	16	8	24	

Tabla 5D

Pares de tratamiento	Volumen tumoral (Día 21)			Valor p
	No cero	Cero	Total	
5 mpk mDX400	8	4	12	0,0013
5 mpk mDX400 +10 mpk CD137 (4-1BB)	0	12	12	
Total	8	16	24	

Tabla 5E

Pares de tratamiento	Volumen tumoral (Día 21)			Valor p
	No cero	Cero	Total	
10 mpk CD137 (4-1BB)	8	4	12	0,0013
5 mpk mDX400 +10 mpk CD137 (4-1BB)	0	12	12	
Total	8	16	24	

La tolerancia al tratamiento fue evaluada monitorizando el peso corporal de los animales, como se muestra en la Figura 13. No se observó una pérdida significativa de masa corporal con la administración de los agentes individuales o con la terapia de combinación, lo que indica que los tratamientos fueron bien tolerados.

5

## REFERENCIAS

1. Sharpe, A.H, Wherry, E.J., Ahmed R., and Freeman G.J. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nature Immunology* (2007); 8: 239-245.
- 5 2. Dong H *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med.* 2002 Aug; 8(8): 793-800.
3. Yang *et al.* PD-1 interaction contributes to the functional suppression of T-cell responses to human uveal melanoma cells in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 Jun; 49 (6 (2008): 49: 2518-2525.
4. Ghebeh *et al.* The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia* (2006) 8: 190-198.
- 10 5. Hamanishi J *et al.* Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proceeding of the National Academy of Sciences* (2007): 104: 3360-3365.
6. Thompson RH *et al.* Significance of B7-H1 overexpression in kidney cancer. *Clinical genitourin Cancer* (2006): 5: 206-211.
- 15 7. Nomi, T. Sho, M., Akahori, T., *et al.* Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death- 1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research* (2007); 13: 2151-2157.
8. Ohgashi Y *et al.* Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand 2 expression in human esophageal cancer. *Clin. Cancer Research* (2005): 11: 2947-2953.
9. Inman *et al.* PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata: associations with localized stage progression. *Cancer* (2007): 109: 1499-1505.
- 20 10. Shimauchi T *et al.* Augmented expression of programmed death-1 in both neoplastic and nonneoplastic CD4+ T-cells in adult T-cell Leukemia/ Lymphoma. *Int. J. Cancer* (2007): 121: 2585-2590.
11. Gao *et al.* Overexpression of PD-L1 significantly associates with tumor aggressiveness and postoperative recurrence in human hepatocellular carcinoma. *Clinical Cancer Research* (2009) 15: 971-979.
- 25 12. Nakanishi J. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunol Immunother.* (2007) 56: 1173-1182.
13. Hino *et al.* Tumor cell expression of programmed cell death-1 is a prognostic factor for malignant melanoma. *Cancer* (2010): 00: 1-9.
14. Ghebeh H. Foxp3+ tregs and B7-H1 +/PD-1 + T lymphocytes co-infiltrate the tumor tissues of high-risk breast cancer patients: implication for immunotherapy. *BMC Cancer.* 2008 Feb 23; 8: 57.
- 30 15. Ahmadzadeh M *et al.* Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* (2009) 114: 1537-1544.
16. Thompson RH *et al.* PD-1 is expressed by tumor infiltrating cells and is associated with poor outcome for patients with renal carcinoma. *Clinical Cancer Research* (2007) 15: 1757-1761.
- 35 17. Wang C, Lin GH, McPherson AJ, *et al.* Immune regulation by 4-1BB and 4-1BBL: complexities and challenges. *Immunol Rev.* (2009) 229(1): 192-215.
18. Zhang X, Voskens CJ, Sallin M, *et al.* CD137 promotes proliferation and survival of human B cells. *J Immunol.* (2010) 184(2): 787-795.
19. Broll K, Richter G, Pauly S, *et al.* CD137 expression in tumor vessel walls. High correlation with malignant tumors. *Am J Clin Pathol.* (2001) 115(4): 543-549.
- 40 20. Seaman S, Stevens J, Yang MY, *et al.* Genes that distinguish physiological and pathological angiogenesis. *Cancer Cell* (2007) 11(6): 539-554.
21. Olofsson PS, Söderström LA, Wågsäter D, *et al.* CD137 is expressed in human atherosclerosis and promotes development of plaque inflammation in hypercholesterolemic mice. *Circulation* (2008) 117(10): 1292-1301.
- 45 22. Houot R, Goldstein MJ, Kohrt HE. Therapeutic effect of CD137 immunomodulation in lymphoma and its enhancement by Treg depletion. *Blood* (2009) 114(16): 3431-3438.
23. Kohrt HE, Houot R, Goldstein MJ. CD137 stimulation enhances the antilymphoma activity of anti-CD20 antibodies. *Blood* (2011) 117(8): 2423-2432.

24. Sabbagh L, Pulle G, Liu Y, et al. ERK-dependent Bim modulation downstream of the 4-1BB-TRAF1 signaling axis is a critical mediator of CD8 T cell survival *in vivo*. *J Immunol.* (2008) 180(12): 8093-8101.
25. Lynch DH. The promise of 4-1BB (CD137)-mediated immunomodulation and the immunotherapy of cancer. *Immunol Rev.* (2008) 222:277-286.
- 5 26. Vinay DS, Cha K, Kwon BS. Dual immunoregulatory pathways of 4-1BB signaling. *J Mol Med.* (2006) 84(9): 726-736.

LISTA DE SECUENCIAS

- <110> PFIZER INC. MERCK SHARP & DOHME CORP.
- 5 <120> COMBINACIÓN DE UN ANTAGONISTA DE PD-1 Y UN AGONISTA DE 4-1BB PARA EL TRATAMIENTO DE CÁNCER
- <130> PCFC-954-WO1
- 10 <140>  
<141>
- <150> 61/935,748  
<151> 04-02-2014
- 15 <160> 36
- <170> Patent In versión 3.5
- 20 <210> 1  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 25
- <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"
- 30
- <400> 1  
**Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Phe Ser Tyr Leu His**  
**1 5 10 15**
- 35
- <210> 2  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 40
- <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"
- 45
- <400> 2  
**Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser**  
**1 5**
- 50
- <210> 3  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 55
- <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"
- 60
- <400> 3

ES 2 783 026 T3

Gln His Ser Trp Glu Leu Pro Leu Thr  
1 5

5 <210> 4  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

15 <400> 4  
Ser Tyr Tyr Leu Tyr  
1 5

20 <210> 5  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

25 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

30 <400> 5  
Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Ser Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Ser

35 <210> 6  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

40 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

45 <400> 6  
Arg Asp Ser Asn Tyr Asp Gly Gly Phe Asp Tyr  
1 5 10

50 <210> 7  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

55 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

ES 2 783 026 T3

<400> 7  
Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His

5           1                   5                           10                                   15

<210> 8  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

10  
  
15 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 8  
Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser

20           1                   5

<210> 9  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

25  
  
30 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 9  
Gln His Ser Arg Asp Leu Pro Leu Thr

35           1                   5

<210> 10  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

40  
  
45 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 10  
Asn Tyr Tyr Met Tyr

50           1                   5

<210> 11  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

55  
  
60 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 11

ES 2 783 026 T3

Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15

Asn

5

<210> 12  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

15

<400> 12  
 Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr  
 1 5 10

20

<210> 13  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

30

<400> 13  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

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

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

35

<210> 14

ES 2 783 026 T3

<211> 447  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

10

<400> 14  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 115 120 125  
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala  
 130 135 140  
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145 150 155 160  
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
 165 170 175  
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
 180 185 190  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys  
 195 200 205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro



ES 2 783 026 T3

<400> 15

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 Lys Gly Val Ser Thr Ser  
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala  
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

5 <210> 16  
<211> 111  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 16

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser  
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro  
35 40 45

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

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

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

20 <210> 17  
<211> 111  
<212> PRT

ES 2 783 026 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

5 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 17

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser  
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro  
35 40 45

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

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

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

10 <210> 18

<211> 218

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 18

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

ES 2 783 026 T3

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
 35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala  
 50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 19

<211> 218

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 19

ES 2 783 026 T3

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro  
 35 40 45

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

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

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 20  
 <211> 218  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

10

<400> 20

ES 2 783 026 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro  
 35 40 45

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

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

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 21

<211> 447

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 21

ES 2 783 026 T3

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

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

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala  
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
 180 185 190

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

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

ES 2 783 026 T3

210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 355 360 365

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

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440 445

<210> 22  
 <211> 218  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 22

ES 2 783 026 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 Lys Gly Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
 35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala  
 50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 23

<211> 440

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 23

ES 2 783 026 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

ES 2 783 026 T3

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

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> 24  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

10

<400> 24

ES 2 783 026 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> 25

<211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

5

ES 2 783 026 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

ES 2 783 026 T3

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

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> 26

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5

<400> 26

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu  
1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro  
20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys  
35 40 45

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

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser  
65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly  
85 90 95

Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu  
100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln  
115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys  
130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro

10

ES 2 783 026 T3

145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala  
165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu  
180 185 190

Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu  
195 200 205

Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe  
210 215 220

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly  
225 230 235 240

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu  
245 250 255

5 <210> 27  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 27  
Ser Thr Tyr Trp Ile Ser  
1 5

15 <210> 28  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

20 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 28  
Lys Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln  
1 5 10 15

25 Gly  
30 <210> 29  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

35 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 29  
Arg Gly Tyr Gly Ile Phe Asp Tyr  
1 5



ES 2 783 026 T3

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

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Thr Tyr  
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

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

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Gly Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 34  
<211> 108  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
10 <221> fuente  
<223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 34  
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala  
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr  
35 40 45

Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Tyr Thr Gly Phe Gly Ser Leu  
85 90 95

Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105

15 <210> 35  
<211> 442  
<212> PRT

ES 2 783 026 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

5 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 35

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

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Thr Tyr  
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

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

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Gly Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

ES 2 783 026 T3

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

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe  
180 185 190

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

Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro  
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
225 230 235 240

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

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

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

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val  
290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440

ES 2 783 026 T3

<210> 36  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota="Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

10

<400> 36  
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala  
 20 25 30  
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr  
 35 40 45  
 Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Tyr Thr Gly Phe Gly Ser Leu  
 85 90 95  
 Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys  
 100 105 110  
 Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln  
 115 120 125  
 Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly  
 130 135 140  
 Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly  
 145 150 155 160  
 Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala  
 165 170 175  
 Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser  
 180 185 190  
 Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val  
 195 200 205  
 Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210

15

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un medicamento que comprende un antagonista de una proteína de Muerte Programada 1 (PD-1) para uso en combinación con un agonista de 4-1BB para tratar cáncer en un individuo, donde el antagonista de PD-1 es un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde las cadenas pesada y ligera comprenden la SEQ ID NO: 21 y la SEQ ID NO: 22, respectivamente; y donde el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal agonista de 4-1BB que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde las cadenas pesada y ligera comprenden la SEQ ID NO: 35 y la SEQ ID NO: 36, respectivamente, donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón de célula no pequeña, cáncer de célula renal, cáncer de cabeza y cuello, 10 cáncer de tiroides y cáncer de pulmón de célula pequeña.
- 15 2. Un medicamento que comprende un agonista de 4-1BB para uso en combinación con un antagonista de una proteína de Muerte Programada 1 (PD-1) para tratar un cáncer en un individuo, donde el antagonista de PD-1 es un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde las cadenas pesada y ligera comprenden la SEQ ID NO: 21 y la SEQ ID NO: 22, respectivamente; y donde el agonista de 4-1BB es un anticuerpo monoclonal agonista de 4-1BB que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde las cadenas pesada y ligera comprenden la SEQ ID NO: 35 y la SEQ ID NO: 36, respectivamente, donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón de célula no pequeña, cáncer de célula renal, cáncer de cabeza y cuello, 20 cáncer de tiroides y cáncer de pulmón de célula pequeña.
- 25 3. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde el antagonista de PD-1 se formula como un medicamento líquido que comprende 7% (p/v) de sacarosa, 0,02% (p/v) de polisorbato 80 en tampón de histidina 10 mM, pH 5,5.
- 30 4. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el cáncer da positivo para expresión de PD-L1.
- 35 5. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el antagonista de PD-1 es pembrolizumab.
- 40 6. El medicamento para uso según la reivindicación 5, donde el antagonista de PD-1 se formula como un medicamento líquido que comprende 25 mg/mL de antagonista de PD-1, 7% (p/v) de sacarosa, 0,02% (p/v) de polisorbato 80 en tampón de histidina 10 mM, pH 5,5.
- 45 7. El medicamento, para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el agonista de 4-1BB es utomilumab.
- 50 8. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el cáncer es un tumor sólido metastásico avanzado que da positivo para PD-L1.
- 55 9. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el anticuerpo monoclonal antagonista anti-PD-1 es para uso simultáneo en una combinación con el anticuerpo monoclonal agonista de 4-1BB.
- 60 10. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el anticuerpo monoclonal agonista de 4-1BB es para uso simultáneo en una combinación con el anticuerpo monoclonal antagonista anti-PD-1.
- 65 11. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el anticuerpo monoclonal antagonista anti-PD-1 es para uso separado o secuencial en una combinación con el anticuerpo monoclonal agonista de 4-1BB.
- 70 12. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y 11, donde el anticuerpo monoclonal agonista de 4-1BB es para uso separado o secuencial en una combinación con el anticuerpo monoclonal antagonista anti-PD-1.
- 75 13. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el antagonista de PD-1 se formula para ser administrado en una dosis seleccionada del grupo que consiste en 2 mg/kg q2wk y 10 mg/kg q2wk, y donde el agonista de 4-1BB se formula para ser administrado en una dosis seleccionada del grupo que consiste en 1,2 mg/kg q2wk, 2,4 mg/kg q4wk y 5,0 mg/kg q2wk.
- 80 14. El medicamento para uso según la reivindicación 8, donde el cáncer es un tumor sólido avanzado o metastásico que da positivo para expresión de PD-L1 en un ensayo inmunohistoquímico (IHC).

**hPD-1.08A - CDR1 de cadena ligera (SEQ ID NO: 1)**

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Phe Ser Tyr Leu His

**hPD-1.08A - CDR2 de cadena ligera (SEQ ID NO: 2)**

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

**hPD-1.08A - CDR3 de cadena ligera (SEQ ID NO: 3)**

Gln His Ser Trp Glu Leu Pro Leu Thr

**hPD-1.08A - CDR1 de cadena pesada (SEQ ID NO: 4)**

Ser Tyr Tyr Leu Tyr

**hPD-1.08A - CDR2 de cadena pesada (SEQ ID NO: 5)**

Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Ser Glu Lys Phe Lys Ser

**hPD-1.08A - CDR3 de cadena pesada (SEQ ID NO: 6)**

Arg Asp Ser Asn Tyr Asp Gly Gly Phe Asp Tyr

**Fig. 1**

**hPD-1.09A - CDR1 de cadena ligera (SEQ ID NO: 7)**

Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His

**hPD-1.09A - CDR2 de cadena ligera (SEQ ID NO: 8)**

Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser

**hPD-1.09A - CDR3 de cadena ligera (SEQ ID NO: 9)**

Gln His Ser Arg Asp Leu Pro Leu Thr

**hPD-1.09A - CDR1 de cadena pesada (SEQ ID NO: 10)**

Asn Tyr Tyr Met Tyr

**hPD-1.09A - CDR2 de cadena pesada (SEQ ID NO: 11)**

Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys Asn

**hPD-1.09A - CDR3 de cadena pesada (SEQ ID NO: 12)**

Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr

**Fig. 2**

109A-H - región variable de cadena pesada (SEQ ID NO: 13)

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys  
 Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg  
 Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly  
 Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr  
 Thr Thr Ala Tyr Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 Cys Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 Thr Val Thr Val Ser Ser

409-H - cadena pesada de longitud completa (SEQ ID NO: 14)

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys  
 Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg  
 Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly  
 Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr  
 Thr Thr Ala Tyr Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 Cys Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
 Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

Fig. 3

**K09A-L-11 - región variable de cadena ligera (SEQ ID NO: 15)**

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala  
 Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

**K09A-L-16 - región variable de cadena ligera (SEQ ID NO: 16)**

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
 Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

**K09A-L-17 - región variable de cadena ligera (SEQ ID NO: 17)**

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
 Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

**Fig. 4**

**K09A-L11 - cadena ligera de longitud completa (SEQ ID NO: 18)**

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala  
 Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val  
 Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp  
 Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val  
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

**K09A-L16 - cadena ligera de longitud completa (SEQ ID NO: 19)**

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
 Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val  
 Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp  
 Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val  
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

**Fig. 5A**

**K09A-L17 - cadena ligera de longitud completa (SEQ ID NO: 20)**

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr  
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val  
Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp  
Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val  
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

**Fig. 5B**

**Cadena pesada (SEQ ID NO: 21)**

QVQLVQSGVE VRKPGASVKV SCKASGYTFT NYMYWVRQA PGQGLEWMGG 50  
 INPSNGGTNF NEKFKNRVTE TDSSTTTAY MELKSLQFDD TAVYYCARRD 100  
 YRFDMGFQYW GQGTTVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK 150  
 DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT 200  
 YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLEPPKPKDT 250  
 LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY 300  
 RYVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT 350  
 LPDSQSEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS 400  
 DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMH EALHNHYTQKS LSLSLGK 447

**Cadena ligera (SEQ ID NO: 22)**

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASKGVS TSGYSYLHWY QQKPGQAPRL 50  
 LIYLAAYLES GVPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YQHSRDLPL 100  
 TFGGGTKVEI KRTVAAPSVE IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV 150  
 QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSL SLLTSLKADY EKHKVYACEV 200  
 THQGLSSPVT KSFNRGEC 219

**Fig. 6**

Nivolumab

**Cadena pesada (SEQ ID NO: 23)**

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL DCKASGITFS NSGMHWVRQA PGKGLEWVAV 50  
 IWYDGSKRYI ADSVEGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCATND 100  
 DYWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEFV 150  
 TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH 200  
 KPSNTKVDKR VESKYGPPCP PCPAPEFLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP 250  
 EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STYRVVSVLT 300  
 VLHQDNLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSQEE 350  
 MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY 400  
 SRLTVDKSRW QEGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSLGK 440

**Cadena ligera (SEQ ID NO: 24)**

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKQ GQAPRLLIYD 50  
 ASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRTFGQ 100  
 GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY PREAKVQWKV 150  
 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKQ STYSLSSLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG 200  
 LSSPVTKSFN RGEC 214

**Fig. 7**

**Región variable de cadena pesada correspondiente al anticuerpo de 4-1BB (SEQ ID NO: 33)**

EVQLVQSGAEVKKFGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQMPGKGLEWMMGKIYPGDSYTNYSPSFQGGVTTISADKSI  
TAYLQWSSLKASDTAMYVCARGYGIFDYWGQGLVTVSS

**Región variable de cadena ligera correspondiente al anticuerpo de 4-1BB (SEQ ID NO: 34)**

SYELTQPPSVSVSFGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQSPVFLVIYQDKNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGT  
QAMDEADYYCATYTGFGSLAVFGGGTKLTVL

**Fig. 8**

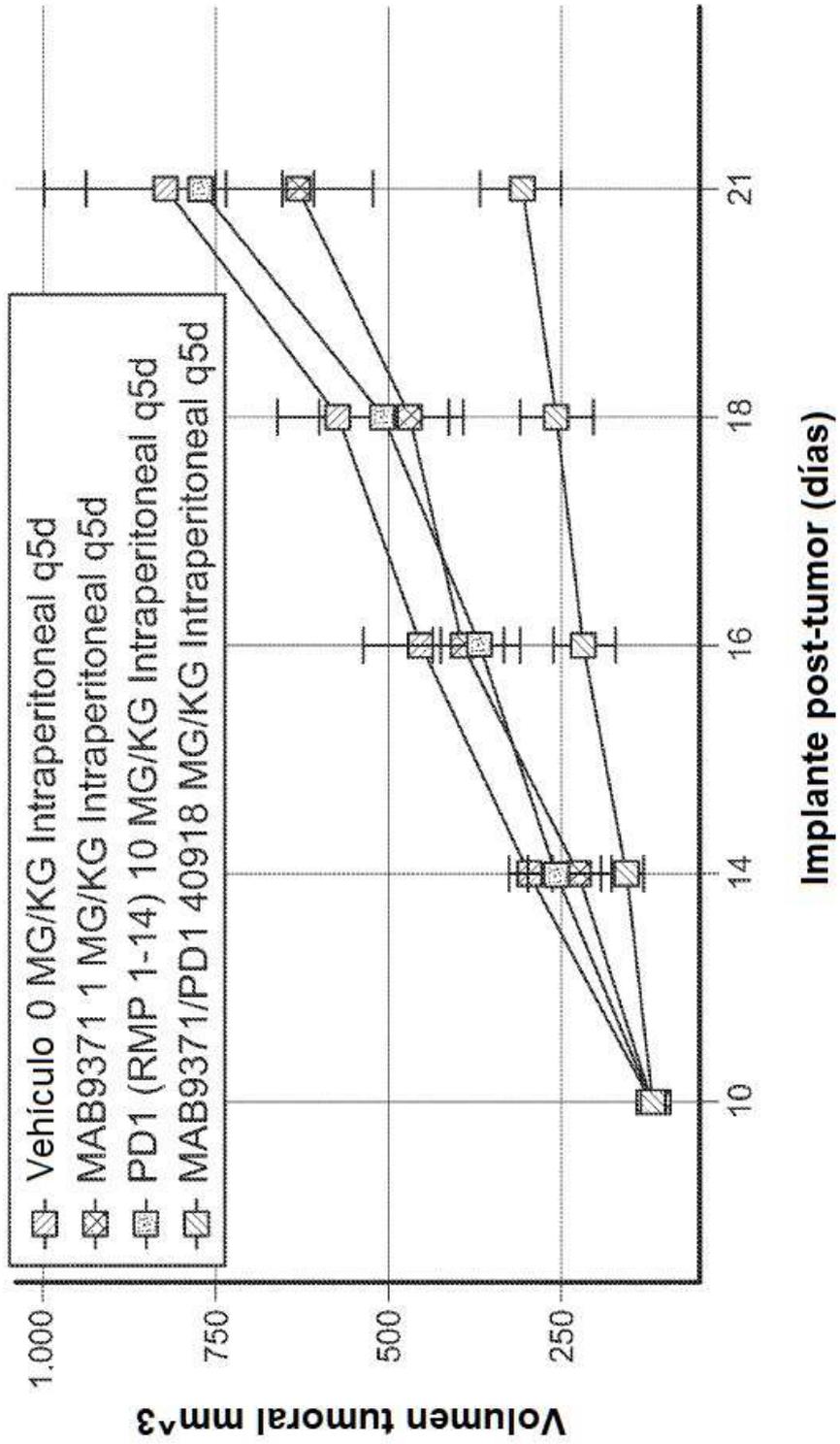


Fig. 9

**Secuencia de aminoácidos de 4-1BB humana (SEQ ID No: 26)**

Mgnscynivatliilvlnfertrslqdpesncpagtfdnrrnqicspcppnsfssaggqrtdicrqckgvfrtrke  
csstsnaeodctpgfhclgagcsnceqdkqggqeltkkkgkdcocfgtfdnqkrgierpwtncsldgksvlvngtker  
dvvcgppadlspgassvtppaparepghspqiisfflaltstallfliffltlrfsvvkrgrkklliyifkqpfmrp  
vqttqeedgcscrfpeseeeggcel

**CDR1 de cadena pesada correspondiente a 4-1BB (SEQ ID No: 27)**

STYWIS

**CDR2 de cadena pesada correspondiente a 4-1BB (SEQ ID No: 28)**

KIYFGDSYTNYSPEFQG

**CDR3 de cadena pesada correspondiente a 4-1BB (SEQ ID No: 29)**

RGYGIFDY

**CDR1 de cadena ligera correspondiente a 4-1BB (SEQ ID No: 30)**

SGDNIGDQYAH

**CDR2 de cadena ligera correspondiente a 4-1BB (SEQ ID No: 31)**

QDKNRPS

**CDR3 de cadena ligera correspondiente a 4-1BB (SEQ ID No: 32)**

ATYTGFGSLAV

**Fig. 10**

**Cadena pesada de anticuerpo agonista de 4-1BB (SEQ ID NO: 35)**

EVQLVQSGAEVKKFGESLRISCKGSGYSFSTYWI SWVRQMPGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGVVTSADKSI S  
TAYLQWSSLKASDTAMYYCARGYGFIDYWGQGLVTVSSastkgpsvfplapcsrsteestaalgclvkdyfpepvt  
vswngaltsgvhtfpavqlqssglyslssvvtvpssnfgtqytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappva  
gpsvflfppkpkdtlmi srtpvvtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdw  
lngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpenn  
ykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhrhnytqkslsispk

**Cadena ligera de anticuerpo agonista de 4-1BB (SEQ ID NO: 36)**

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQSPVLVIYQDKNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGT  
QAMDEADYYCATYTGFGSLAVFGGGKLTFLGqpkaapsvltfppsseelqankatlvcclisdfygavtvawkads  
spvkagvetttpskqsnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvt hegstvektvaptecs

**Fig. 11**

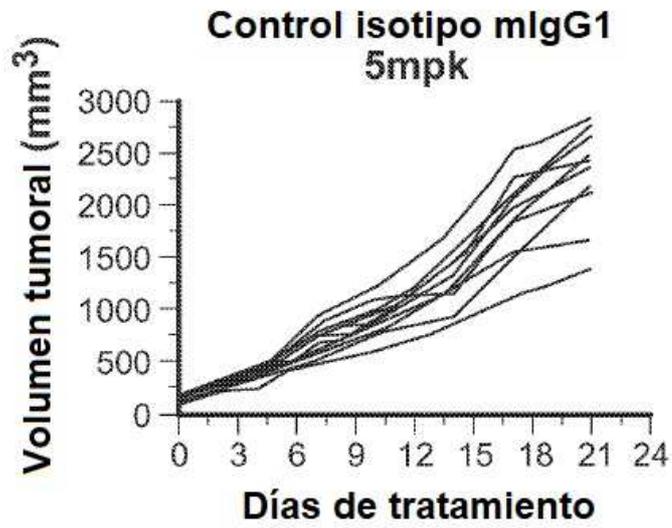


Fig. 12A

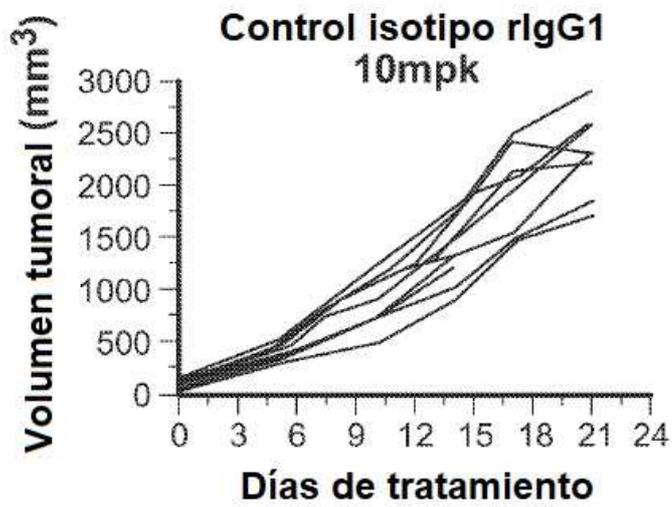


Fig. 12B

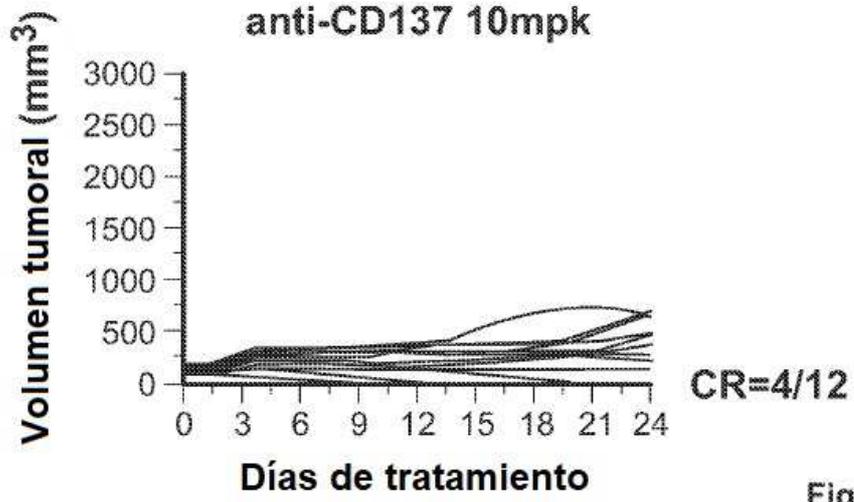


Fig. 12C

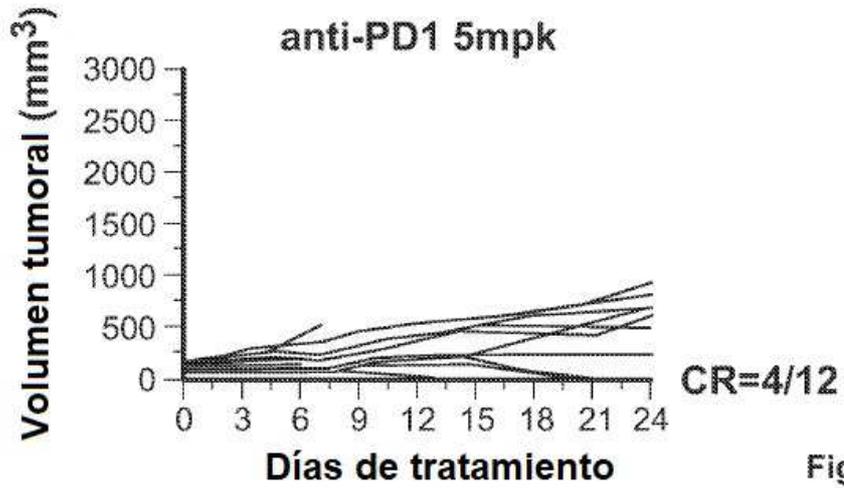


Fig. 12D

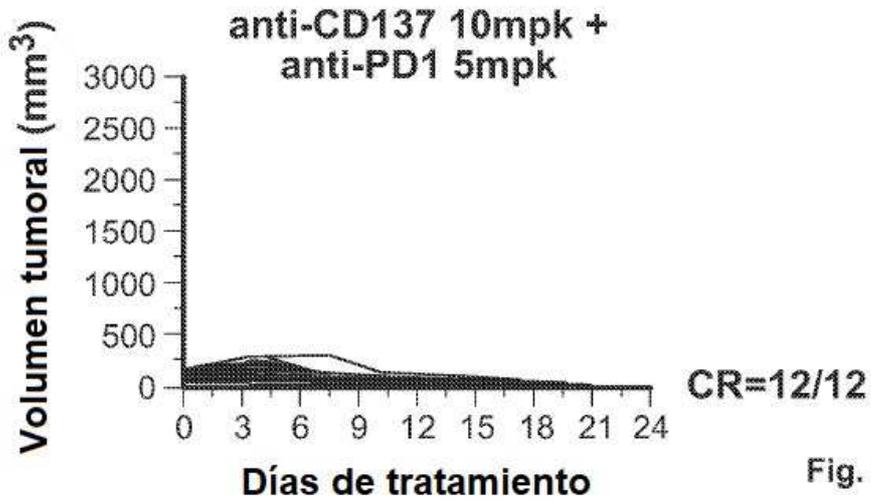


Fig. 12E

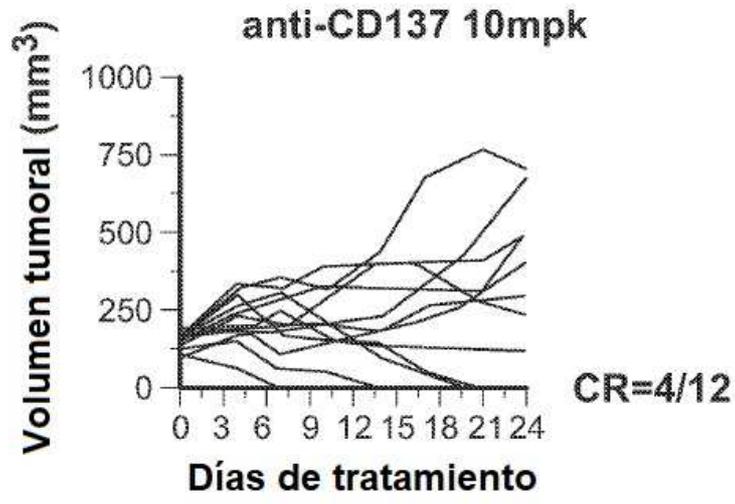


Fig. 12F

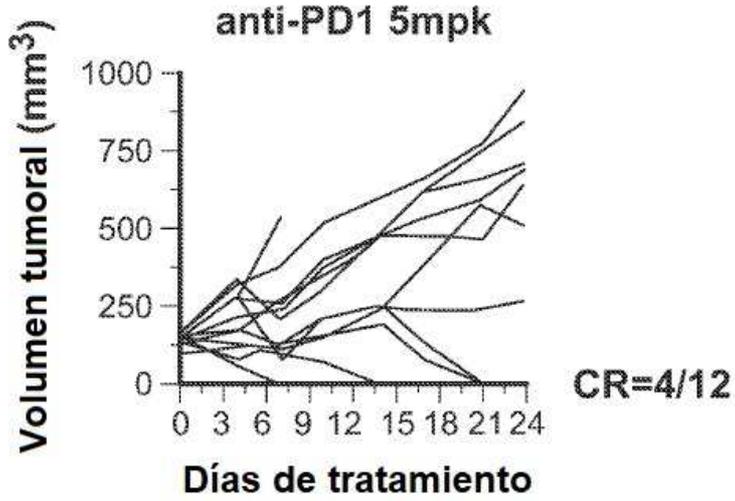


Fig. 12G

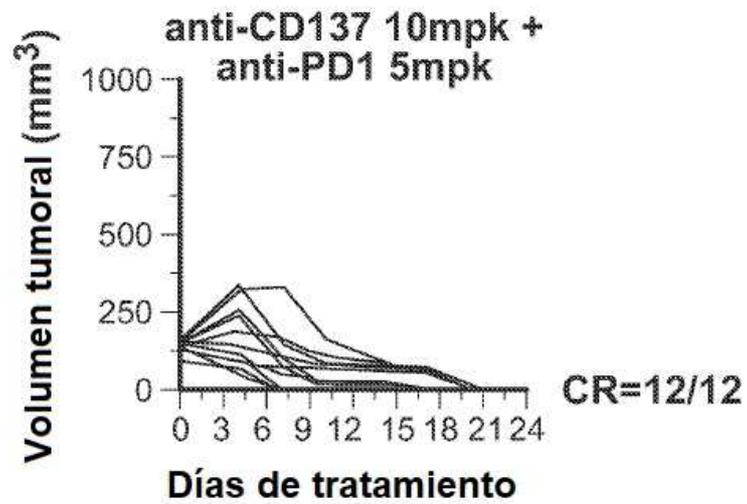


Fig. 12H

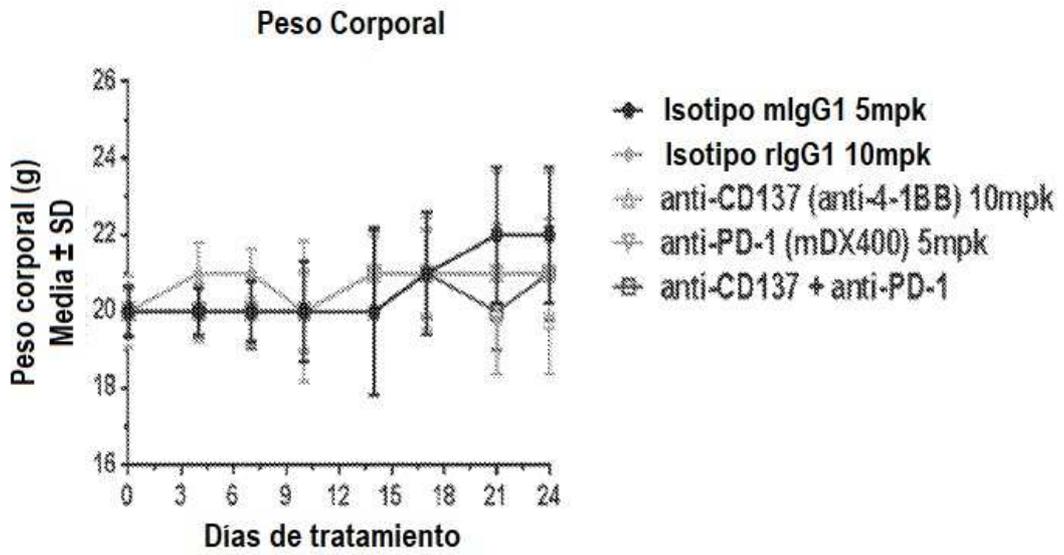


Fig. 13