

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201891693 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2018.12.28

(51) Int. Cl. G01N 33/574 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.01.24

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ЛЕЧЕНИЯ АФЛИБЕРЦЕПТОМ ПАЦИЕНТА, ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО СТРАДАЮЩЕГО ОТ РАКА, ПОСРЕДСТВОМ ИЗМЕРЕНИЯ УРОВНЯ БИОМАРКЕРА В ПЛАЗМЕ КРОВИ

(31) 16305065.1

(32) 2016.01.25

(33) EP

(86) PCT/EP2017/051363

(87) WO 2017/129537 2017.08.03

(71) Заявитель:
САНОФИ (FR)

(72) Изобретатель:
Широн-Блондель Мариелль,
Дрейманн Дженнифер, Паккар
Каролин (FR)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к применению VCAM-1, ICAM-1 и/или PIGF в качестве биомаркеров для прогнозирования результата лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом пациента, предположительно страдающего от рака.

A1

201891693

201891693

A1

**СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ЛЕЧЕНИЯ АФЛИБЕРЦЕПТОМ
ПАЦИЕНТА, ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО СТРАДАЮЩЕГО ОТ РАКА, ПОСРЕДСТВОМ
ИЗМЕРЕНИЯ УРОВНЯ БИОМАРКЕРА В ПЛАЗМЕ КРОВИ**

Настоящее изобретение относится к применению VCAM-1, ICAM-1 и PlGF в качестве биомаркеров для прогнозирования результата лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом пациента, предположительно страдающего от рака.

Афлиберцепт или зив-афлиберцепт, также называемый VEGFR1R2-Fc.DELTA.C1 Flt1D2.Flk1D3.Fc.DELTA.C1 или AVE0005, представляет собой гомодимерный белок, в котором каждый димер содержит два идентичных мономера, каждый из которых является слитым белком, содержащим сигнальную последовательность VEGFR1, слитую с Ig-доменом D2 рецептора VEGFR1, который собственно слит с Ig-доменом D3 рецептора VEGFR2, в свою очередь слитого с Fc-доменом IgG1.

Белковая цепь является гликозилированной N-ацетил-глюкозамином, фукозой, галактозой, маннозой и сиаловыми кислотами, участвующими в образовании углеводных структур. N-связанные олигосахариды состоят главным образом из би-антеннарных структур с одной или двумя концевыми сиаловыми кислотами или без них. Мономер характеризуется аминокислотной последовательностью под SEQ ID N°1.

Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) уже одобрило афлиберцепт под торговой маркой EYLEA® для лечения пациентов с неоваскулярной (влажной) возрастной макулодистрофией (AMD). В частности, EYLEA® является торговой маркой афлиберцепта, полученного, обработанного и составленного для интравитреальной инъекции.

В ходе регистрации афлиберцепта (ZALTRAP®) для применения в лечении рака и с учетом утвержденного применения афлиберцепта для лечения AMD, FDA потребовало присвоить другое название (зив-афлиберцепт) соединению, используемому в лечении рака. Таким образом, зив-афлиберцепт является наименованием лекарственного

препарата по Справочнику национальных непатентованных названий США (USAN), официально присвоенным FDA для обозначения фармацевтической композиции, содержащей афлиберцепт в виде полученной, обработанной и составленной формы для инъекции путем внутривенной инфузии. Зив-афлиберцепт был утвержден FDA для продажи под торговой маркой ZALTRAP® для лечения метастатического колоректального рака (mCRC).

Европейское агентство по оценке и контролю лекарственных средств (EMA) также утвердило ZALTRAP®, однако не предложило разделить названия для данного соединения. Таким образом, в Европейском союзе название "афлиберцепт" используют независимо от показания.

ZALTRAP® и EYLEA® получали посредством несколько отличающихся способов. Они оба содержат афлиберцепт или зив-афлиберцепт, но соотношение агрегатов афлиберцепта или зив-афлиберцепта в ZALTRAP® и EYLEA® несколько отличается.

Утверждение ZALTRAP® основывалось на данных, полученных из испытания VELOUR – многоцентрового рандомизированного плацебо-контролируемого испытания III фазы, в котором сравнивали эффективность афлиберцепта в отношении плацебо в комбинации со схемой FOLFIRI для пациентов с mCRC, которых ранее лечили по схеме, предусматривающей оксалиплатин.

Несмотря на эффективность и безопасность лечения рака афлиберцептом, целью остается улучшение идентификации пациентов, которые должны получать большую пользу от лечения.

Действительно, способность идентифицировать пациентов с метастатическим колоректальным раком (mCRC), которые получают пользу от афлиберцепта, дополнительно улучшит клиническую эффективность данного лекарственного средства.

На сегодняшний день не было идентифицировано достоверных прогностических биомаркеров в сыворотке или плазме крови, которые коррелируют с результатами лечения афлиберцептом.

Профилирование образцов опухоли и плазмы крови, полученных от пациентов, участвующих в клинических испытаниях, и последующий анализ их геномных/протеомных и клинических данных,

могли бы обеспечить открытие и потенциальную валидацию прогностических биомаркеров.

Было обнаружено, что высокие уровни VCAM-1, ICAM-1 и/или PlGF в начальный момент времени коррелируют с более короткими показателями времени выживаемости.

Васкулярная молекула клеточной адгезии-1 (VCAM-1), также известная как CD106, характеризуется последовательностью под SEQ ID N°1 (эталонная последовательность NCBI: NP_001069.1). Термин "VCAM-1" охватывает ее гомологи и изоформы и их варианты, а также фрагменты последовательностей при условии, что вариантные белки (в том числе изоформы), гомологичные белки и/или фрагменты распознаются одним или несколькими специфическими к VCAM-1 антителами.

Молекула межклеточной адгезии-1 (ICAM-1), также известная как CD54, характеризуется последовательностью под SEQ ID N°2 (эталонная последовательность NCBI: NP_000192.2). Термин "ICAM-1" охватывает ее гомологи и изоформы и их варианты, а также фрагменты последовательностей при условии, что вариантные белки (в том числе изоформы), гомологичные белки и/или фрагменты распознаются одним или несколькими специфическими к ICAM-1 антителами.

"Плацентарный фактор роста" или "PlGF" включает 2 изоформы PlGF1 и PlGF2, которые характеризуются соответственно последовательностями под SEQ ID N°3 (эталонная последовательность NCBI: NP_002623.2) и под SEQ ID N°4 (эталонная последовательность NCBI: NP_001193941.1). Термин "PlGF" охватывает PlGF1 и PlGF2, их гомологи и изоформы и их варианты, а также фрагменты последовательностей при условии, что вариантные белки (в том числе изоформы), гомологичные белки и/или фрагменты распознаются одним или несколькими специфическими к PlGF антителами.

Корреляцию между ICAM-1 и исходом у пациентов тестировали в клинических испытаниях, где пациентов лечили бевацизумабом.

Корреляцию между ICAM-1 и исходом у пациентов наблюдали в испытании, в котором пациентов с раком легких лечили бевацизумабом, цисплатином и этопозидом (Horn et al., J Clin

Oncol 2009, 27:6006-6011). Авторы обнаружили, что "у пациентов с высокими уровнями ICAM была незначительная тенденция к улучшению OS по сравнению с пациентами с низкими уровнями", при этом в другом исследовании (Dowlati et al, 2008, Clin Cancer Res 14 (5), 1407) "у пациентов с низким уровнем ICAM в начальный момент времени был более ярко выраженный ответ, чем у пациентов с высоким уровнем ICAM".

Но у пациентов с колоректальным раком, которых лечили бевацизумабом, капецитабином и оксалиплатином, корреляция между ICAM-1 и исходом у пациентов не была обнаружена (Liu et al. Cancer Medicine 2013; 2(2): 234-242).

Эти статьи показывают уровень непредсказуемости между различными исследованиями биомаркеров с одними и теми же биологическими препаратами, т. е. бевацизумабом.

Кроме того, бевацизумаб является антителом к VEGF-A. Афлиберцепт представляет собой химерный белок, а не антитело. Он состоит из частей внеклеточных доменов рецепторов 1 и 2 VEGF человека, слитых с частью Fc IgG1 человека. Афлиберцепт связывается не только с VEGF-A, но также с VEGF-B и плацентарным фактором роста (PlGF).

Таким образом, бевацизумаб и афлиберцепт характеризуются структурой и функциями, весьма отличными друг от друга, и специалист в данной области не будет непосредственно экстраполировать результаты, полученные в отношении бевацизумаба, на афлиберцепт.

Корреляция между VCAM-1 и исходом у пациентов была обнаружена в двух клинических испытаниях, упомянутых выше (Liu et al; Cancer Medicine 2013; 2 (2): 234-242 и Horn et al, J Clin Oncol 2009; 27:6006-6011). Однако эти два исследования были без режима лечения, предусматривающего плацебо, дающего возможность понять, является ли эффект прогностическим или предсказывающим.

Настоящее изобретение относится к применению VCAM-1, ICAM-1 и/или PlGF в качестве биомаркеров для прогнозирования результата лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом пациента, предположительно страдающего от рака.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение

предусматривает способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения в начальный момент времени уровня биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, где, если уровень биомаркера в биологическом образце является низким по отношению к эталонному уровню экспрессии биомаркера, то пациента идентифицируют как кандидата для терапии в отношении рака.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение предусматривает способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения в начальный момент времени уровня биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, где, если уровень биомаркера в биологическом образце является высоким по отношению к эталонному или пороговому уровню экспрессии биомаркера, то пациента идентифицируют как не являющегося кандидатом для терапии в отношении рака. Пороговый или эталонный уровень экспрессии биомаркера позволяет определить чувствительные и нечувствительные популяции.

Согласно варианту осуществления эталонный уровень экспрессии VCAM-1 находится в диапазоне от около 406 нг/мл до около 577 нг/мл. Еще согласно одному эталонный уровень экспрессии VCAM-1 составляет около 553 нг/мл.

Согласно другому варианту осуществления эталонный уровень экспрессии ICAM-1 находится в диапазоне от около 92 нг/мл до около 145 нг/мл. Еще согласно одному эталонный уровень экспрессии ICAM-1 составляет около 144 нг/мл.

Согласно другому варианту осуществления эталонный уровень экспрессии PlGF находится в диапазоне от около 12 нг/мл до около 19 нг/мл. Еще согласно одному эталонный уровень экспрессии PlGF составляет около 17 нг/мл.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения пациента с раком с помощью афлиберцепта или зив-афлиберцепта, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта пациенту, где уровень биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, в биологическом образце пациента является низким по отношению к эталонному уровню экспрессии биомаркера.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу улучшения выживаемости без прогрессирования заболевания (PFS) и/или общей выживаемости (OS) пациента с раком, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта пациенту, где уровень биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, в биологическом образце пациента является низким по отношению к эталонному уровню экспрессии биомаркера.

Согласно варианту осуществления одного из способов, описанных выше, биологический образец выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки и плазмы крови.

Согласно варианту осуществления одного из способов, описанных выше, рак представляет собой рак толстого кишечника, колоректальный рак или рак прямой кишки.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из колоректальный рак представляет собой метастатический колоректальный рак.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения субъекта лечат афлиберцептом и дополнительно подвергают химиотерапевтическому лечению оксалиплатином, 5-фторурацилом (5-FU) и фолиниевой кислотой (т. е. лечению FOLFOX), фолиниевой кислотой, 5-фторурацилом и иринотеканом (т. е. лечению FOLFIRI) или 5-фторурацилом и фолиниевой кислотой (т. е. лечению FUFOL или LV5FU2).

Химиотерапевтическое лечение может объединять по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или не более 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 средств, таких как, например, комбинация оксалиплатина, 5-фторурацила (5-FU) и фолиниевой кислоты (т. е. лечение FOLFOX или модифицированное лечение FOLFOX6, как описано в примере

ниже), комбинация фолиниевой кислоты, 5-фторурацила и иринотекана (т. е. лечение FOLFIRI) или комбинация 5-фторурацила и фолиниевой кислоты (т. е. лечение FUFOL или LV5FU2).

В связи с этим заявка WO 2012146610 относится к способу лечения mCRC с использованием афлиберцепта или зив-афлиберцепта в комбинации с FOLFIRI. Содержание данной заявки включено посредством ссылки.

Согласно варианту осуществления одного из способов, описанных выше, терапевтически эффективные количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта, оксалиплатина, 5-фторурацила (5-FU) и фолиниевой кислоты вводят указанному пациенту.

Согласно варианту осуществления одного из способов, описанных выше, терапевтически эффективные количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта, фолиниевой кислоты, 5-фторурацила (5-FU) и иринотекана вводят указанному пациенту.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, пациенту вводят фолиниевую кислоту в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 200 мг/м² до приблизительно 600 мг/м², 5-фторурацил (5-FU) в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 2000 мг/м² до приблизительно 4000 мг/м², иринотекан в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 300 мг/м², и афлиберцепт в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, пациенту вводят фолиниевую кислоту в дозе, составляющей приблизительно 400 мг/м², 5-фторурацил (5-FU) в дозе, составляющей приблизительно 2800 мг/м², иринотекан в дозе, составляющей приблизительно 180 мг/м², и афлиберцепт в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, фолиниевую кислоту вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 400 мг/м², 5-фторурацил (5-FU) вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 2800 мг/м², иринотекан вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 180 мг/м², и афлиберцепт вводят внутривенно в

дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, и при этом комбинацию вводят каждые две недели.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, фолиниевую кислоту, 5-фторурацил (5-FU), иринотекан и афлиберцепт вводят внутривенно каждые две недели в течение периода, находящегося в диапазоне от 9 до 18 недель.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, фолиниевую кислоту вводят внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта. Ее также можно вводить внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта в течение периода, составляющего приблизительно 2 часа.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, иринотекан вводят внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта. Его также можно вводить внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта в течение периода, составляющего приблизительно 90 минут.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, 5-фторурацил (5-FU) вводят непосредственно после введения афлиберцепта.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, первое количество 5-фторурацила (5-FU) вводят внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта, а второе количество 5-FU вводят внутривенно после первого количества посредством непрерывной инфузии.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, приблизительно 400 мг/м² 5-фторурацила (5-FU) вводят внутривенно за период, составляющий от 2 до 4 минут после введения афлиберцепта, и при этом 2400 мг/м² 5-FU вводят внутривенно в течение более около 46 часов после введения 400 мг/м² посредством непрерывной инфузии.

Согласно варианту осуществления указанного пациента предварительно лечили с помощью терапии на основе оксалиплатина или бевацизумаба.

Согласно другому варианту осуществления химиотерапия, лучевая терапия или хирургическое вмешательство у указанного

пациента были неудачными.

Настоящее изобретение также относится к применению афлиберцепта или зив-афлиберцепта для лечения пациента, предположительно страдающего от рака, где пациента идентифицировали как имеющего более низкий уровень биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, в биологическом образце по сравнению с эталонным уровнем экспрессии биомаркера.

Настоящее изобретение дополнительно относится к набору для прогнозирования того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом, при этом набор содержит:

а) средства для измерения уровня биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF; и

б) необязательно инструкцию, предоставляющую указания по применению указанного набора в прогнозировании того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом.

Другой аспект настоящего изобретения дополнительно относится к изделию, содержащему

а) упаковочный материал;

б) средства для измерения уровня биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF; и

с) инструкцию, предоставляющую указания по применению указанного набора в прогнозировании того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом.

Вышеуказанные способы и применение по настоящему изобретению могут представлять собой, например, *in vitro* или *ex vivo* способы и применение.

Средства для измерения уровня экспрессии белка VCAM-1, ICAM-1 и PlGF хорошо известны из уровня техники и включают иммунологический анализ, такой как анализ ELISA. Например, средства для измерения уровня VCAM-1 включают антитела, специфически связывающиеся с VCAM-1.

Уровень белка VCAM-1 можно определить, например, с

использованием способов иммунологического выявления, таких как анализ ELISA. Способы включают антитело, которое связывается с белком VCAM-1, например моноклональное или поликлональное антитело, вариант или фрагменты антитела, такие как одноцепочечное антитело, диатело, минитело, одноцепочечный Fv-фрагмент ($sc(Fv)$), $sc(Fv)_2$ антитело, Fab-фрагмент, или $F(ab')_2$ -фрагмент, или однодоменное антитело. Такие антитела хорошо известны из уровня техники и являются коммерчески доступными. В частности, их также можно получать путем иммунизации животных (например, кроликов, крыс или мышей) белком VCAM-1. Антитела можно использовать для определения экспрессии белка в ряде иммунологических анализов, включающих системы конкурентного и неконкурентного анализа, использующие такие методики, как вестерн-блоттинг, иммуногистохимический анализ/иммунофлуоресценция (т. е. выявление белка в фиксированных клетках или тканях), радиоиммунологический анализ, такой как RIA (изотопный иммунологический анализ), ELISA (ферментный иммуносорбентный анализ), иммунологические анализы по типу "сэндвич", анализы с использованием реакции иммунопреципитации, анализы с использованием реакции иммунодиффузии, анализы с использованием реакции агглютинации, анализы с использованием реакции связывания комплемента, иммунорадиометрические анализы, иммунофлуоресцентные анализы, например FIA (иммунологический флуоресцентный анализ), хемилюминесцентные иммунологические анализы, ECLIA (электрохемилюминесцентный иммунологический анализ) и иммунологические анализы с использованием белка А. Данные анализы являются стандартными и хорошо известны специалисту в данной области (Ausubel et al (1994) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York).

Экспрессию белка VCAM-1 можно определять с помощью протеомного способа, такого как масс-спектрометрические анализы (LC-MS или LC-MS/MS). Качественные и количественные масс-спектрометрические методики известны и используются в уровне техники. Для этого целевые пептиды, специфические к маркерным белкам, выбирают и количественно определяют на основе

калибровочных кривых, построенных по данным анализа синтетических пептидов, меченых стабильными изотопами. Продукты ферментативного расщепления, в которые добавляли определенное количество меченых изотопами целевых пептидов, анализируют посредством жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. Соотношение меченых и немеченых целевых пептидов измеряли для оценки концентраций целевых пептидов и, следовательно, концентрации маркерного белка.

Средства для измерения уровня экспрессии VCAM-1 могут также включать такие реагенты, как, например, реакционные и/или отмывочные буферы. Средства могут находиться, например, во флаконах или титрационных микропланшетах, или могут быть закрепленными на твердой подложке, такой как микрочип, что может быть в случае для праймеров и зондов.

Аналогичные средства доступны специалисту в данной области для выявления ICAM-1 и PlGF.

Согласно варианту осуществления белки VCAM-1, ICAM-1 и PlGF можно измерять с помощью мультиплексного анализа на основе микросфер, методики Luminex™.

Афлиберцепт или зив-афлиберцепт предложен в составе, который не причиняет вреда пациенту, подлежащему лечению.

Согласно варианту осуществления афлиберцепт или зив-афлиберцепт *предложен в составе* с сахарозой и полисорбатом 20 (стабилизаторами), хлоридом натрия, цитратным буфером и натрий-фосфатным буфером, с доведенным до определенного значения pH.

Согласно другому варианту осуществления афлиберцепт или зив-афлиберцепт поставляют в двух формах выпуска лекарственного средства:

- форме выпуска со 100 мг афлиберцепта или зив-афлиберцепта/4,0 мл (номинальная концентрация);
- второй форме выпуска с 200 мг афлиберцепта или зив-афлиберцепта/8,0 мл (номинальная концентрация).

Обе формы выпуска изготавливают из одного основного стерильного раствора с концентрацией афлиберцепта или зив-афлиберцепта, составляющей 25 мг/мл.

Перед инфузией пациенту концентрированный раствор разбавляют 0,9% раствором хлорида натрия или 5% декстрозой.

Противораковые средства, которые используют в упомянутом выше способе или применении, предлагают в фармацевтически приемлемом носителе, наполнителе или разбавителе, который не причиняет вреда пациенту, подлежащему лечению.

Фармацевтически приемлемые носители и наполнитель, которые можно использовать в композициях по настоящему изобретению включают без ограничения ионообменные вещества, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, самоэмульгирующиеся системы для доставки лекарственных средств (SEDDS), как, например, d-α-токоферол полиэтиленгликоль 1000 сукцинат, поверхностно-активные вещества, используемые в фармацевтических лекарственных формах, такие как разновидности Tween, или другие подобные полимерные матрицы для доставки, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, неполные глицеридные смеси насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, натрия фосфат двузамещенный, вторичный кислый фосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, полиакрилаты, воски, блок-сополимеры полиэтилена и полиоксипропилена, полиэтиленгликоль и ланолин.

Специалистам в данной области будет понятно, что композиции соответственно составляют так, чтобы они были совместимы с предполагаемым путем введения. Примеры подходящих путей введения включают парентеральный путь, включая, например, внутримышечные, подкожные, внутривенные, внутрибрюшинные или местные внутриопухолевые инъекции. Пероральный путь также можно использовать, при условии, что композиция находится в подходящей для перорального введения форме, способной защитить активное вещество от ферментов желудка и кишечника.

Термин "эффективное количество" относится к количеству лекарственного средства в отдельности или в сочетании с другими

лекарственным средством или схемой лечения, эффективными для лечения заболевания или нарушения у млекопитающего. В случае рака терапевтически эффективное количество лекарственного средства может уменьшать количество раковых клеток; уменьшать размер опухоли; ингибировать (т. е. замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать) инфильтрацию раковых клеток в периферические органы; ингибировать (т. е. замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать) метастазы опухолей; ингибировать до некоторой степени рост опухоли и/или уменьшать до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с нарушением. В соответствии со степенью, с которой лекарственное средство может предотвращать рост и/или убивать существующие раковые клетки, оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. Например, для терапии рака эффективность *in vivo* может быть измерена путем оценки продолжительности выживаемости, продолжительности выживаемости без прогрессирования заболевания (PFS), значений частоты ответа (RR), продолжительности ответа и/или качества жизни.

Термины "терапия", "терапевтический", "лечение" и "осуществление лечения" используют в данном документе для характеристики терапевтического способа или способа, который направлен на (1) замедление или остановку прогрессирования, обострения или ухудшения симптомов течения заболевания или болезненного состояния, по отношению к которым используют данный термин; (2) облегчение или осуществление уменьшения интенсивности симптомов течения заболевания или болезненного состояния, по отношению к которым данный термин используют; и/или (3) регрессию или устранение течения заболевания или болезненного состояния, по отношению к которым данный термин используют.

Термин "общая выживаемость (OS)" относится к длительности времени в ходе лечения и после него, в течение которого пациент продолжает жить. Как может оценить специалист в данной области, общая выживаемость пациента улучшается или увеличивается, если пациент относится к подгруппе пациентов, у которой статистически значимое более длительное среднее время выживаемости по

сравнению с другой подгруппой пациентов.

Термин "выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS)" относится к длительности времени в ходе лечения и после него, в течение которого, согласно оценке лечащего врача или исследователя, заболевание пациента не ухудшается, т. е. не прогрессирует. Как будет понятно специалисту в данной области, выживаемость без прогрессирования заболевания у пациента улучшается или увеличивается, если пациент принадлежит к подгруппе пациентов с более длительным периодом времени, в течение которого заболевание не прогрессирует, по сравнению со средним значением или средним временем выживаемости без прогрессирования заболевания у контрольной группы пациентов со схожим состоянием.

"Субъектом" или "пациентом" может быть человек или отличное от человека млекопитающее, такое как обезьяны, собаки, кошки, морские свинки, хомяки, кролики, коровы, лошади, козы и овцы.

Термин "эталонный уровень" в данном документе относится к заранее определенному значению. Как будет понятно специалисту в данной области, эталонный уровень предопределен и установлен в соответствии с требованиями в отношении, например, специфичности и/или чувствительности. Эти требования могут различаться, например от одного регулирующего органа к другому. Может быть, например, что чувствительность или специфичность анализа, соответственно, должны быть установлены в определенных пределах, например 80%, 90% или 95%. Такие требования также могут быть определены с точки зрения положительных или отрицательных прогностических значений. Тем не менее, на основе идеи, изложенной в настоящем изобретении, всегда можно будет достичь эталонного уровня, соответствующего этим требованиям. Согласно одному варианту осуществления эталонный уровень определяют у здоровых индивидуумов. Эталонное значение согласно одному варианту осуществления было предопределено для нозологической единицы, к которой принадлежит пациент. Согласно некоторым вариантам осуществления эталонный уровень, например, может быть установлен на любой процент от 25% до 75% от общего распределения значений в исследуемой нозологической единице.

Согласно другим вариантам осуществления эталонный уровень, например, может быть установлен на медиану, тертили или квартили, как определено из общего распределения значений в исследуемой нозологической единице. Согласно одному варианту осуществления эталонный уровень установлен на медианное значение, как определено из общего распределения значений в исследуемой нозологической единице.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фигуре 1 представлены кривые Каплана-Мейера для конечной точки PFS в отношении чувствительных и нечувствительных популяций, определенных по VCAM-1.

На фигуре 2 представлены кривые Каплана-Мейера для конечной точки OS в отношении чувствительных и нечувствительных популяций, определенных по VCAM-1.

На фигуре 3 представлены кривые Каплана-Мейера для конечных точек PFS для чувствительных и нечувствительных популяций, определенных по ICAM-1.

На фигуре 4 представлены кривые Каплана-Мейера для конечной точки OS в отношении чувствительных и нечувствительных популяций, определенных по ICAM-1.

На фигуре 5 представлены кривые Каплана-Мейера для конечной точки PFS в отношении чувствительных и нечувствительных популяций, определенных по VCAM-1 и ICAM-1.

На фигуре 6 представлены кривые Каплана-Мейера для конечной точки OS в отношении чувствительных и нечувствительных популяций, определенных по VCAM-1 и ICAM-1.

На фигуре 7 представлены кривые Каплана-Мейера для конечной точки PFS в отношении чувствительных и нечувствительных популяций, определенных по PlGF.

ПРИМЕР. Прогностический эффект VCAM-1, ICAM-1 и/или PlGF в отношении PFS в исследовании AFLAME

ИССЛЕДОВАНИЕ EFC11338 (AFLAME)

EFC11338 разрабатывали как многонациональное рандомизированное двойное слепое исследование афлиберцепта в сравнении с плацебо с комбинацией иринотекан/5-FU (FOLFIRI) у пациентов с метастатическим колоректальным раком (MCRC) после

отсутствия результата с режимом на основе оксалиплатина.

Цели

Идентифицировать потенциальные прогностические биомаркеры для ответа на лечение в конечных точках эффективности (выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS), общая выживаемость (OS) и общая частота ответа (ORR)).

Идентифицировать потенциальные прогностические биомаркеры для конечных точек эффективности (PFS, OS и ORR).

Идентифицировать потенциальную корреляцию между биомаркерами и другими исходными особенностями.

Идентифицировать потенциальную корреляцию длительных измерений в плазме крови с клиническими конечными точками.

Идентифицировать потенциальные группы гомогенных индивидуумов на основе их молекулярных профилей неконтролируемым образом и оценить корреляцию с клиническими исходами (PFS, OS и ORR).

Оценить профиль безопасности популяции, идентифицированной при помощи предсказывающих/прогностических биомаркеров.

Доза и график введения

Пациентам вводили либо афлиберцепт, либо плацебо, в зависимости от группы лечения, в которую их распределяли. Сразу после этого пациенты получали иринотекан, 5-FU и лейковорин (схема FOLFIRI). Данное лечение повторяли каждые 2 недели.

Афлиберцепт/плацебо.

Группа лечения А, афлиберцепт: 4 мг/кг вводили IV в течение 1 часа в 1 день, каждые 2 недели,

или

группа лечения В, плацебо: 4 мг/кг вводили IV в течение 1 часа в 1 день, каждые 2 недели.

Схема FOLFIRI

Сразу после введения афлиберцепта/плацебо все пациенты получали:

- иринотекан 180 мг/м² с помощью IV инфузии в 500 мл D5W в течение 90 минут и dl-лейковорин* 400 мг/м² с помощью IV инфузии в течение 2 часов, в одно и то же время, в пакетах с применением Y-инфузионной системы, с последующим введением:

- 5-FU 400 мг/м² в виде болюсного IV введения в течение 2-4 минут, затем:

- 5-FU 2400 мг/м² в виде непрерывной IV инфузии в 500 мл D5W (рекомендуется) в течение более 46 часов.

Продолжительность лечения

Лечение пациента осуществляли до наступления прогрессирования заболевания, до наступления неприемлемой токсичности или до отказа пациента.

Продолжительность наблюдения

Наблюдение пациентов осуществляли в ходе исследуемого лечения и во время периода последующего наблюдения до смерти или даты завершения исследования в отношении OS, в зависимости от того, что наступало раньше. Дата завершения исследования в отношении OS - один год после последнего зарегистрированного пациента.

Количество субъектов

Популяция, сформированная в зависимости от назначенного лечения (ITT): 332 (109 в группе плацебо+223 в группе афлиберцепта).

Популяция, оцениваемая по частоте ответа: 295 (96 в группе плацебо+199 в группе афлиберцепта).

Оцениваемая по биомаркерам Luminox - группа 1 биомаркеров: 295 (99 в группе плацебо+196 в группе афлиберцепта).

Оцениваемая по биомаркерам Luminox - группа 2 биомаркеров: 108 (37 в группе плацебо+71 в группе афлиберцепта).

Оцениваемая по биомаркерам ELISA: 329 (107 в группе плацебо+222 в группе афлиберцепта).

Из-за рабочей ошибки некоторые пациенты, рандомизированные в группу лечения афлиберцептом, получали плацебо в ходе одного или нескольких циклов лечения, или наоборот. В общей сложности 198 пациентов получали по меньшей мере один неправильно собранный набор для лечения.

Критерии оценки

Биомаркеры

Изучали различные типы данных о биомаркерах в текущем

предложении по трансляционным исследованиям в изучении AFLAME:

107 ангиогенных факторов плазмы крови и воспалительных цитокинов, измеренных в начальный момент времени, во время и после лечения (окончание инфузии в цикле 1, 48 ч после афлиберцепта/плацебо в цикле 2 или 3, через 30 дней после последнего введения афлиберцепта/плацебо) с использованием методики Luminox®;

уровни свободных VEGF-A и PlGF, измеренные в образцах плазмы крови в начальный момент времени с использованием методики ELISA (ферментного иммуносорбентного анализа).

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ И АНАЛИЗ

Биомаркеры в плазме крови измеряли либо с помощью методики Luminox™ (мультиплексный анализ с использованием микросфер), либо с помощью ELISA.

Биомаркеры плазмы, измеренные с помощью методики Luminox™

Ангиогенные факторы в плазме крови и воспалительные цитокины измеряли в начальный момент времени перед циклом 1.

Тридцать белков, измеренных во всех образцах, были определены как биомаркеры группы 1, и 77 белков, измеренных только для некоторых образцов, были определены как биомаркеры группы 2. Биомаркеры группы 1 представляли собой ангиогенные/воспалительные молекулы и были выбраны на основе механизма действия афлиберцепта (ингибирование 3 ангиогенных факторов и их рецепторов), ключевые кандидатные биомаркеры идентифицировали, исходя из независимых исследований афлиберцепта или литературных источников/экспертов.

Биомаркеры плазмы крови, измеренные с помощью ELISA

Помимо биомаркеров плазмы крови, измеренных с использованием методики Luminox™, с помощью методики ELISA измеряли концентрации свободного VEGF-A и свободного PlGF в образцах плазмы крови в начальный момент времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Однофакторный анализ

Биомаркеры исследовали в отношении прогностических и предсказывающих эффектов на PFS.

VCAM-1 и ICAM-1 идентифицировали как потенциально прогностические с p -значением, скорректированным поправкой Бенжамини-Хохберга (BH), $\leq 0,2$ (295 субъектов).

Затем чувствительные и нечувствительные популяции определяли с использованием VCAM-1 и ICAM-1 (p -значение с BH $\leq 0,2$).

PlGF идентифицировали как потенциально прогностические с помощью ELISA (нескорректированное p -значение=0,075).

Идентификация чувствительных и нечувствительных популяций с помощью VCAM-1

Для определения чувствительных (197 индивидуумов) и нечувствительных (98 индивидуумов) популяций соответственно, соответствующих индивидуумам с низкими значениями уровня VCAM-1 и высокими значениями уровня VCAM-1, определили пороговое значение 6,32, соответствующее 553 нг/мл.

На фигуре 1 и фигуре 2 представлены кривые Каплана-Мейера для конечных точек PFS и OS для чувствительных и нечувствительных популяций, что иллюстрирует лучший эффект лечения для группы с низким уровнем VCAM-1 по сравнению с группой с высоким уровнем VCAM-1. В отношении OS, в дополнение к лучшему эффекту лечения по сравнению с плацебо, чувствительная популяция показала в целом лучший прогноз (повышенная OS для группы с низким уровнем VCAM-1 в группах лечения плацебо и афлиберцептом).

В таблице 1 показана частота ответа для чувствительных и нечувствительных популяций по группе лечения. В чувствительной популяции наблюдали повышенную частоту ответа (26%) на лечение афлиберцептом/folfiri по сравнению с нечувствительной популяцией (10%).

Таблица 1 – Частота ответа для нечувствительных/чувствительных популяций, определенных с помощью VCAM-1 для PFS – предварительно обработанные данные – VCAM-1 и оцениваемая популяция RR

Популяция	Плацебо/ Folfiri	Афлиберцепт/ Folfiri
-----------	---------------------	-------------------------

Чувствительная по VSCAM-1 $\leq 6,32$ (N=189)	3/68 (4%)	31/121 (26%)
Нечувствительная по VSCAM-1 $> 6,32$ (N=94)	1/26 (4%)	7/68 (10%)
Общее количество	4/94 (4%)	38/189 (20%)

Идентификация чувствительных и нечувствительных популяций с помощью ICAM-1

Для определения чувствительных (205 индивидуумов) и нечувствительных (90 индивидуумов) популяций соответственно, соответствующих индивидуумам с низкими значениями уровня ICAM-1 и высокими значениями уровня ICAM-1, определили пороговое значение 5,04, соответствующее 144 нг/мл.

На фигуре 3 и фигуре 4 представлены кривые Каплана-Мейера для конечных точек PFS и OS для чувствительных и нечувствительных популяций, что иллюстрирует лучший эффект лечения для группы с низким уровнем ICAM-1 по сравнению с группой с высоким уровнем ICAM-1. В отношении OS, в дополнение к лучшему эффекту лечения по сравнению с плацебо, чувствительная популяция показала в целом лучший прогноз (повышенная OS для группы с низким уровнем ICAM-1 в группах лечения плацебо и афлиберцептом).

В таблице 2 показана частота ответа для чувствительных и нечувствительных популяций по группе лечения. В чувствительной популяции наблюдали повышенную частоту ответа (25%) на лечение афлиберцептом/folfiri по сравнению с нечувствительной популяцией (9%).

Таблица 2 – Частота ответа для нечувствительных/чувствительных популяций, определенных с помощью ICAM-1 для PFS – предварительно обработанные данные – ICAM-1 и оцениваемая популяция RR

Популяция	Плацебо/ Folfiri	Афлиберцепт/ Folfiri
Чувствительная по ICAM-1 $\leq 5,04$ (N=197)	3/63 (5%)	33/134 (25%)
Нечувствительная по ICAM-1 $> 5,04$ (N=86)	1/31 (3%)	5/55 (9%)
Общее количество	4/94 (4%)	38/189 (20%)

Многофакторный анализ

Многофакторный прогностический показатель $0,089 \times \text{ICAM} - 1 + 0,17 \times \text{VSCAM} - 1$ дихотомизировали с использованием квантиля от 10% до 90% в качестве порогового.

Чувствительная популяция показала значительную разницу в значениях PFS и OS в пользу афлиберцепта по сравнению с плацебо ($HR=0,47$ для PFS, и $HR=0,66$ для OS), которые были повышенными по сравнению с нечувствительной популяцией ($HR=0,98$ для PFS, и $HR=1,04$ для OS).

Медианная разница значений PFS между афлиберцептом и плацебо составляла 2,59 месяца в чувствительной популяции, демонстрируя большую, но умеренную разницу по сравнению с нечувствительной популяцией (0,5 месяца).

Медианная разница значений OS между афлиберцептом и плацебо составляла 3,75 месяца в чувствительной популяции, демонстрируя большую разницу по сравнению с нечувствительной популяцией (-0,39 месяца). Для нечувствительной популяции было отмечено уменьшение медианного значения OS для группы плацебо и группы лечения (8,90 месяца и 8,51 месяца) по сравнению с другими популяциями, иллюстрирующими потенциальный предсказывающий эффект многофакторного показателя в дополнение к прогностическому эффекту.

В заключение, чувствительная популяция показала снижение HR по сравнению с нечувствительной популяцией в отношении PFS и OS с умеренным усилением относительно медианы.

На фигуре 5 и фигуре 6 представлены кривые Каплана-Мейера для конечных точек PFS и OS для чувствительных и нечувствительных популяций, что иллюстрирует лучший эффект лечения для группы с низким показателем по сравнению с группой с высоким показателем. В отношении OS, в дополнение к лучшему эффекту лечения по сравнению с плацебо, чувствительная популяция показала в целом лучший прогноз (повышенная OS для группы с низким показателем в группах лечения плацебо и афлиберцептом).

Идентификация чувствительных и нечувствительных популяций с помощью **PlGF**

Для определения чувствительных (230 индивидуумов) и нечувствительных (99 индивидуумов) популяций соответственно, соответствующих индивидуумам с низкими значениями уровня PlGF и высокими значениями уровня PlGF, определили пороговое значение 2,82, соответствующее 17 пг/мл.

Фигура 7, на которой представлены кривые Каплана-Мейера для конечной точки PFS для чувствительных и нечувствительных популяций, определенных с помощью PlGF, иллюстрирует определение отсекающего значения PlGF для чувствительных и нечувствительных популяций.

ВЫВОДЫ

VCAM-1 и ICAM-1 идентифицировали как потенциально прогностические биомаркеры для PFS в одномерной структуре (нескорректированное p -значение, равное 0,00017 для VCAM-1 и 0,0043 для ICAM-1).

Третий биомаркер, который оказался потенциально прогностическим, был PlGF, измеренный с помощью ELISA (нескорректированное значение $p=0,075$).

Линейную комбинацию VCAM-1 и ICAM-1 идентифицировали как потенциально прогностическую для PFS.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> SANOFI

<120> СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ЛЕЧЕНИЯ АФЛИБЕРЦЕПТОМ ПАЦИЕНТА, ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО СТРАДАЮЩЕГО ОТ РАКА, ПОСРЕДСТВОМ ИЗМЕРЕНИЯ УРОВНЯ БИОМАРКЕРА В ПЛАЗМЕ КРОВИ

<130> FR2015-020

<160> 4

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 739

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Gly Lys Met Val Val Ile Leu Gly Ala Ser Asn Ile Leu Trp
1 5 10 15

Ile Met Phe Ala Ala Ser Gln Ala Phe Lys Ile Glu Thr Thr Pro Glu
20 25 30

Ser Arg Tyr Leu Ala Gln Ile Gly Asp Ser Val Ser Leu Thr Cys Ser
35 40 45

Thr Thr Gly Cys Glu Ser Pro Phe Phe Ser Trp Arg Thr Gln Ile Asp
50 55 60

Ser Pro Leu Asn Gly Lys Val Thr Asn Glu Gly Thr Thr Ser Thr Leu
65 70 75 80

Thr Met Asn Pro Val Ser Phe Gly Asn Glu His Ser Tyr Leu Cys Thr
85 90 95

Ala Thr Cys Glu Ser Arg Lys Leu Glu Lys Gly Ile Gln Val Glu Ile
100 105 110

Tyr Ser Phe Pro Lys Asp Pro Glu Ile His Leu Ser Gly Pro Leu Glu
115 120 125

Ala Gly Lys Pro Ile Thr Val Lys Cys Ser Val Ala Asp Val Tyr Pro
130 135 140

Phe Asp Arg Leu Glu Ile Asp Leu Leu Lys Gly Asp His Leu Met Lys
145 150 155 160

Ser Gln Glu Phe Leu Glu Asp Ala Asp Arg Lys Ser Leu Glu Thr Lys
165 170 175

Ser Leu Glu Val Thr Phe Thr Pro Val Ile Glu Asp Ile Gly Lys Val
180 185 190

Leu Val Cys Arg Ala Lys Leu His Ile Asp Glu Met Asp Ser Val Pro
195 200 205

Thr Val Arg Gln Ala Val Lys Glu Leu Gln Val Tyr Ile Ser Pro Lys
210 215 220

Asn Thr Val Ile Ser Val Asn Pro Ser Thr Lys Leu Gln Glu Gly Gly
225 230 235 240

Ser Val Thr Met Thr Cys Ser Ser Glu Gly Leu Pro Ala Pro Glu Ile
245 250 255

Phe Trp Ser Lys Lys Leu Asp Asn Gly Asn Leu Gln His Leu Ser Gly
260 265 270

Asn Ala Thr Leu Thr Leu Ile Ala Met Arg Met Glu Asp Ser Gly Ile
275 280 285

Tyr Val Cys Glu Gly Val Asn Leu Ile Gly Lys Asn Arg Lys Glu Val
290 295 300

Glu Leu Ile Val Gln Glu Lys Pro Phe Thr Val Glu Ile Ser Pro Gly
305 310 315 320

Pro Arg Ile Ala Ala Gln Ile Gly Asp Ser Val Met Leu Thr Cys Ser
325 330 335

Val Met Gly Cys Glu Ser Pro Ser Phe Ser Trp Arg Thr Gln Ile Asp
340 345 350

Ser Pro Leu Ser Gly Lys Val Arg Ser Glu Gly Thr Asn Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Leu Ser Pro Val Ser Phe Glu Asn Glu His Ser Tyr Leu Cys Thr
370 375 380

Val Thr Cys Gly His Lys Lys Leu Glu Lys Gly Ile Gln Val Glu Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Phe Pro Arg Asp Pro Glu Ile Glu Met Ser Gly Gly Leu Val
405 410 415

Asn Gly Ser Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Val Pro Ser Val Tyr Pro
420 425 430

Leu Asp Arg Leu Glu Ile Glu Leu Leu Lys Gly Glu Thr Ile Leu Glu
435 440 445

Asn Ile Glu Phe Leu Glu Asp Thr Asp Met Lys Ser Leu Glu Asn Lys
450 455 460

Ser Leu Glu Met Thr Phe Ile Pro Thr Ile Glu Asp Thr Gly Lys Ala
465 470 475 480

Leu Val Cys Gln Ala Lys Leu His Ile Asp Asp Met Glu Phe Glu Pro
485 490 495

Lys Gln Arg Gln Ser Thr Gln Thr Leu Tyr Val Asn Val Ala Pro Arg
500 505 510

Asp Thr Thr Val Leu Val Ser Pro Ser Ser Ile Leu Glu Glu Gly Ser
515 520 525

Ser Val Asn Met Thr Cys Leu Ser Gln Gly Phe Pro Ala Pro Lys Ile
530 535 540

Leu Trp Ser Arg Gln Leu Pro Asn Gly Glu Leu Gln Pro Leu Ser Glu
545 550 555 560

Asn Ala Thr Leu Thr Leu Ile Ser Thr Lys Met Glu Asp Ser Gly Val
565 570 575

Tyr Leu Cys Glu Gly Ile Asn Gln Ala Gly Arg Ser Arg Lys Glu Val
580 585 590

Glu Leu Ile Ile Gln Val Thr Pro Lys Asp Ile Lys Leu Thr Ala Phe
595 600 605

Pro Ser Glu Ser Val Lys Glu Gly Asp Thr Val Ile Ile Ser Cys Thr
610 615 620

Cys Gly Asn Val Pro Glu Thr Trp Ile Ile Leu Lys Lys Lys Ala Glu
625 630 635 640

Thr Gly Asp Thr Val Leu Lys Ser Ile Asp Gly Ala Tyr Thr Ile Arg
645 650 655

Lys Ala Gln Leu Lys Asp Ala Gly Val Tyr Glu Cys Glu Ser Lys Asn
660 665 670

Lys Val Gly Ser Gln Leu Arg Ser Leu Thr Leu Asp Val Gln Gly Arg
675 680 685

Glu Asn Asn Lys Asp Tyr Phe Ser Pro Glu Leu Leu Val Leu Tyr Phe
690 695 700

Ala Ser Ser Leu Ile Ile Pro Ala Ile Gly Met Ile Ile Tyr Phe Ala
705 710 715 720

Arg Lys Ala Asn Met Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Val Glu Ala Gln Lys
725 730 735

Ser Lys Val

<210> 2
<211> 532
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala Pro Ser Ser Pro Arg Pro Ala Leu Pro Ala Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Leu Gly Ala Leu Phe Pro Gly Pro Gly Asn Ala Gln Thr Ser Val Ser
20 25 30

Pro Ser Lys Val Ile Leu Pro Arg Gly Gly Ser Val Leu Val Thr Cys
35 40 45

Ser Thr Ser Cys Asp Gln Pro Lys Leu Leu Gly Ile Glu Thr Pro Leu
50 55 60

Pro Lys Lys Glu Leu Leu Leu Pro Gly Asn Asn Arg Lys Val Tyr Glu
65 70 75 80

Leu Ser Asn Val Gln Glu Asp Ser Gln Pro Met Cys Tyr Ser Asn Cys
85 90 95

Pro Asp Gly Gln Ser Thr Ala Lys Thr Phe Leu Thr Val Tyr Trp Thr
100 105 110

Pro Glu Arg Val Glu Leu Ala Pro Leu Pro Ser Trp Gln Pro Val Gly
115 120 125

Lys Asn Leu Thr Leu Arg Cys Gln Val Glu Gly Gly Ala Pro Arg Ala
130 135 140

Asn Leu Thr Val Val Leu Leu Arg Gly Glu Lys Glu Leu Lys Arg Glu
145 150 155 160

Pro	Ala	Val	Gly	Glu	Pro	Ala	Glu	Val	Thr	Thr	Thr	Val	Leu	Val	Arg	165	170	175
Arg	Asp	His	His	Gly	Ala	Asn	Phe	Ser	Cys	Arg	Thr	Glu	Leu	Asp	Leu	180	185	190
Arg	Pro	Gln	Gly	Leu	Glu	Leu	Phe	Glu	Asn	Thr	Ser	Ala	Pro	Tyr	Gln	195	200	205
Leu	Gln	Thr	Phe	Val	Leu	Pro	Ala	Thr	Pro	Pro	Gln	Leu	Val	Ser	Pro	210	215	220
Arg	Val	Leu	Glu	Val	Asp	Thr	Gln	Gly	Thr	Val	Val	Cys	Ser	Leu	Asp	225	230	235
Gly	Leu	Phe	Pro	Val	Ser	Glu	Ala	Gln	Val	His	Leu	Ala	Leu	Gly	Asp	245	250	255
Gln	Arg	Leu	Asn	Pro	Thr	Val	Thr	Tyr	Gly	Asn	Asp	Ser	Phe	Ser	Ala	260	265	270
Lys	Ala	Ser	Val	Ser	Val	Thr	Ala	Glu	Asp	Glu	Gly	Thr	Gln	Arg	Leu	275	280	285
Thr	Cys	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asn	Gln	Ser	Gln	Glu	Thr	Leu	Gln	Thr	290	295	300
Val	Thr	Ile	Tyr	Ser	Phe	Pro	Ala	Pro	Asn	Val	Ile	Leu	Thr	Lys	Pro	305	310	315
Glu	Val	Ser	Glu	Gly	Thr	Glu	Val	Thr	Val	Lys	Cys	Glu	Ala	His	Pro	325	330	335
Arg	Ala	Lys	Val	Thr	Leu	Asn	Gly	Val	Pro	Ala	Gln	Pro	Leu	Gly	Pro	340	345	350
Arg	Ala	Gln	Leu	Leu	Leu	Lys	Ala	Thr	Pro	Glu	Asp	Asn	Gly	Arg	Ser	355	360	365
Phe	Ser	Cys	Ser	Ala	Thr	Leu	Glu	Val	Ala	Gly	Gln	Leu	Ile	His	Lys	370	375	380
Asn	Gln	Thr	Arg	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Arg	Leu	Asp	Glu	385	390	395
Arg	Asp	Cys	Pro	Gly	Asn	Trp	Thr	Trp	Pro	Glu	Asn	Ser	Gln	Gln	Thr	405	410	415

Pro Met Cys Gln Ala Trp Gly Asn Pro Leu Pro Glu Leu Lys Cys Leu
 420 425 430

Lys Asp Gly Thr Phe Pro Leu Pro Ile Gly Glu Ser Val Thr Val Thr
 435 440 445

Arg Asp Leu Glu Gly Thr Tyr Leu Cys Arg Ala Arg Ser Thr Gln Gly
 450 455 460

Glu Val Thr Arg Lys Val Thr Val Asn Val Leu Ser Pro Arg Tyr Glu
 465 470 475 480

Ile Val Ile Ile Thr Val Val Ala Ala Ala Val Ile Met Gly Thr Ala
 485 490 495

Gly Leu Ser Thr Tyr Leu Tyr Asn Arg Gln Arg Lys Ile Lys Lys Tyr
 500 505 510

Arg Leu Gln Gln Ala Gln Lys Gly Thr Pro Met Lys Pro Asn Thr Gln
 515 520 525

Ala Thr Pro Pro
 530

<210> 3
 <211> 170
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens
 <400> 3

Met Pro Val Met Arg Leu Phe Pro Cys Phe Leu Gln Leu Leu Ala Gly
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Pro Ala Val Pro Pro Gln Gln Trp Ala Leu Ser Ala Gly
 20 25 30

Asn Gly Ser Ser Glu Val Glu Val Val Pro Phe Gln Glu Val Trp Gly
 35 40 45

Arg Ser Tyr Cys Arg Ala Leu Glu Arg Leu Val Asp Val Val Ser Glu
 50 55 60

Tyr Pro Ser Glu Val Glu His Met Phe Ser Pro Ser Cys Val Ser Leu
 65 70 75 80

Leu Arg Cys Thr Gly Cys Cys Gly Asp Glu Asn Leu His Cys Val Pro
 85 90 95

Val Glu Thr Ala Asn Val Thr Met Gln Leu Leu Lys Ile Arg Ser Gly

100

105

110

Asp Arg Pro Ser Tyr Val Glu Leu Thr Phe Ser Gln His Val Arg Cys
 115 120 125

Glu Cys Arg Pro Leu Arg Glu Lys Met Lys Pro Glu Arg Arg Arg Pro
 130 135 140

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

His Leu Cys Gly Asp Ala Val Pro Arg Arg
 165 170

<210> 4
 <211> 149
 <212> BEJOK
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Pro Val Met Arg Leu Phe Pro Cys Phe Leu Gln Leu Leu Ala Gly
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Pro Ala Val Pro Pro Gln Gln Trp Ala Leu Ser Ala Gly
 20 25 30

Asn Gly Ser Ser Glu Val Glu Val Val Pro Phe Gln Glu Val Trp Gly
 35 40 45

Arg Ser Tyr Cys Arg Ala Leu Glu Arg Leu Val Asp Val Val Ser Glu
 50 55 60

Tyr Pro Ser Glu Val Glu His Met Phe Ser Pro Ser Cys Val Ser Leu
 65 70 75 80

Leu Arg Cys Thr Gly Cys Cys Gly Asp Glu Asn Leu His Cys Val Pro
 85 90 95

Val Glu Thr Ala Asn Val Thr Met Gln Leu Leu Lys Ile Arg Ser Gly
 100 105 110

Asp Arg Pro Ser Tyr Val Glu Leu Thr Phe Ser Gln His Val Arg Cys
 115 120 125

Glu Cys Arg Pro Leu Arg Glu Lys Met Lys Pro Glu Arg Cys Gly Asp
 130 135 140

Ala Val Pro Arg Arg
 145

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, для прогнозирования результата лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом пациента, предположительно страдающего от рака.

2. Способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения в начальный момент времени уровня биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, где, если уровень биомаркера в биологическом образце является низким по отношению к эталонному уровню экспрессии биомаркера, то пациента идентифицируют как кандидата для терапии в отношении рака.

3. Способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения в начальный момент времени уровня биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, где, если уровень биомаркера в биологическом образце является высоким по отношению к эталонному уровню экспрессии биомаркера, то пациента идентифицируют как не являющегося кандидатом для терапии в отношении рака.

4. Способ лечения пациента с раком с помощью афлиберцепта или зив-афлиберцепта, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта пациенту, где уровень биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, в биологическом образце пациента ниже, чем эталонный уровень экспрессии биомаркера.

5. Способ лечения пациента с раком с помощью афлиберцепта или зив-афлиберцепта, предусматривающий введение пациенту терапевтически эффективного количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта, где уровни VCAM-1 и ICAM-1 в биологическом образце

пациента ниже, чем соответствующие эталонные уровни экспрессии VCAM-1 и ICAM-1.

6. Способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения соответствующих уровней VCAM-1 и ICAM-1 в начальный момент времени, где, если уровни VCAM-1 и ICAM-1 в биологическом образце являются низкими по отношению к соответствующим уровням экспрессии VCAM-1 и ICAM-1, то пациента идентифицируют как кандидата для терапии в отношении рака.

7. Способ по любому из пп. 2-6, где уровень, измеренный по отношению к эталонному уровню экспрессии VCAM-1, находится в диапазоне от около 406 до около 577 нг/мл.

8. Способ по любому из пп. 2-6, где уровень, измеренный по отношению к эталонному уровню экспрессии VCAM-1, составляет около 553 нг/мл.

9. Способ по любому из пп. 2-6, где уровень, измеренный по отношению к эталонному уровню экспрессии ICAM-1, находится в диапазоне от около 92 до около 145 нг/мл.

10. Способ по любому из пп. 2-6, где пороговый уровень ICAM-1 для определения чувствительных и нечувствительных популяций составляет около 144 нг/мл.

11. Способ по любому из пп. 2-6, где уровень, измеренный по отношению к эталонному уровню экспрессии PlGF, находится в диапазоне от около 12 до около 19 пг/мл.

12. Способ по любому из пп. 2-6, где уровень, измеренный по отношению к эталонному уровню экспрессии PlGF, составляет около 17 пг/мл.

13. Способ по любому из пп. 4-14, где биологический образец выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки и плазмы крови.

14. Способ по любому из пп. 4-15, где рак представляет собой рак толстого кишечника, колоректальный рак или рак прямой кишки.

15. Способ по п. 16, где колоректальный рак представляет

собой метастатический колоректальный рак.

16. Способ по любому из пп. 4-17, где определяемый уровень VCAM-1, ICAM-1 и/или PlGF представляет собой циркулирующий в крови уровень.

17. Способ по любому из пп. 4-18, где указанный способ предусматривает введение указанному пациенту терапевтически эффективных количеств афлиберцепта или зив-афлиберцепта, фолиниевой кислоты, 5-фторурацила (5-FU) и иринотекана.

18. Афлиберцепт или зив-афлиберцепт для применения в лечении пациента, предположительно страдающего от рака, где пациент был идентифицирован как имеющий более низкий уровень биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF, в биологическом образце по сравнению с эталонным уровнем экспрессии биомаркера.

19. Набор для прогнозирования того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом, при этом набор содержит

а) средства для измерения уровня биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF; и

б) необязательно инструкцию, предоставляющую указания по применению указанного набора в прогнозировании того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом.

20. Изделие, содержащее

а) упаковочный материал;

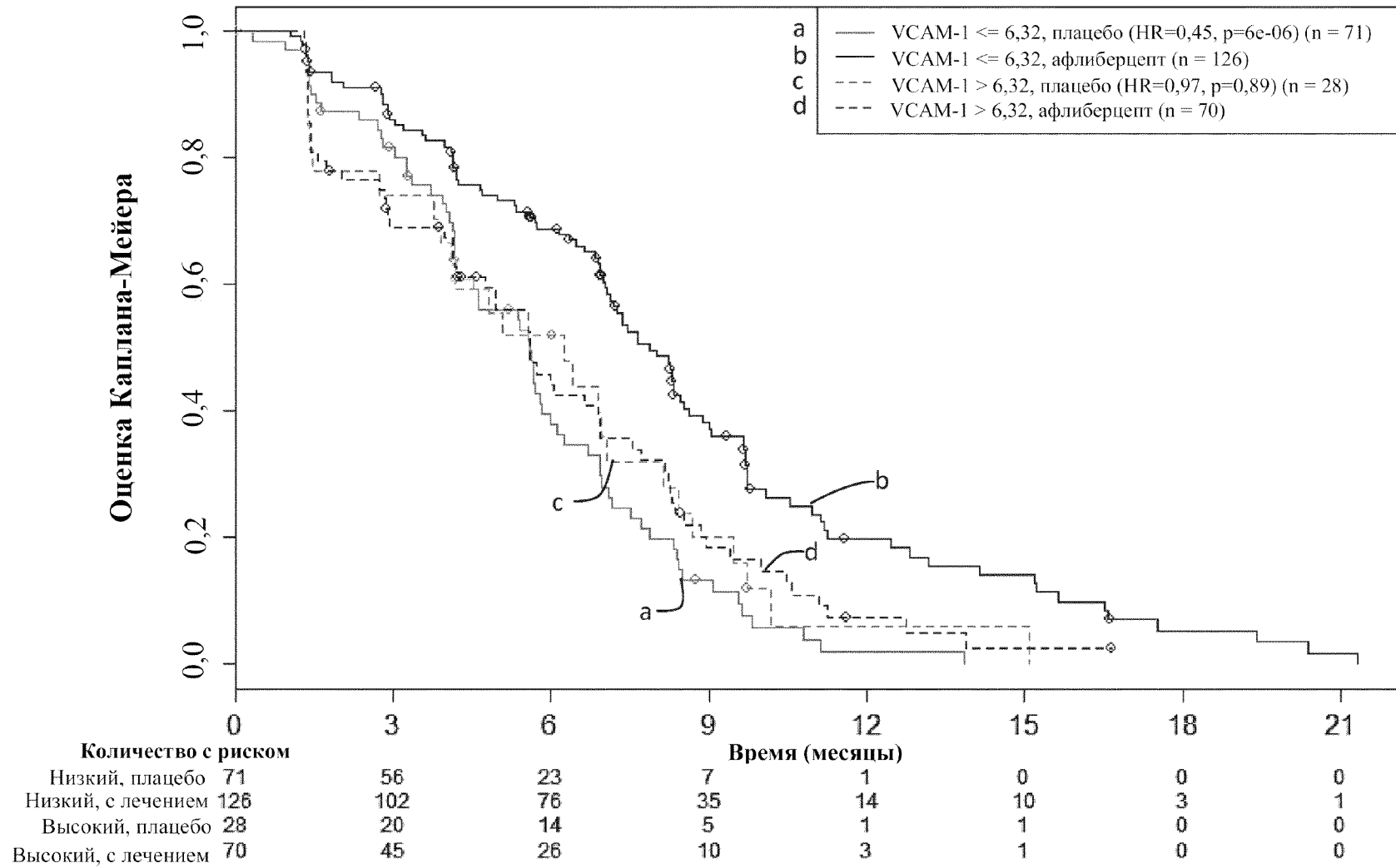
б) средства для измерения уровня биомаркера, выбранного из группы, состоящей из VCAM-1, ICAM-1 и PlGF; и

с) инструкцию, предоставляющую указания по применению указанного набора в прогнозировании того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом.

По доверенности

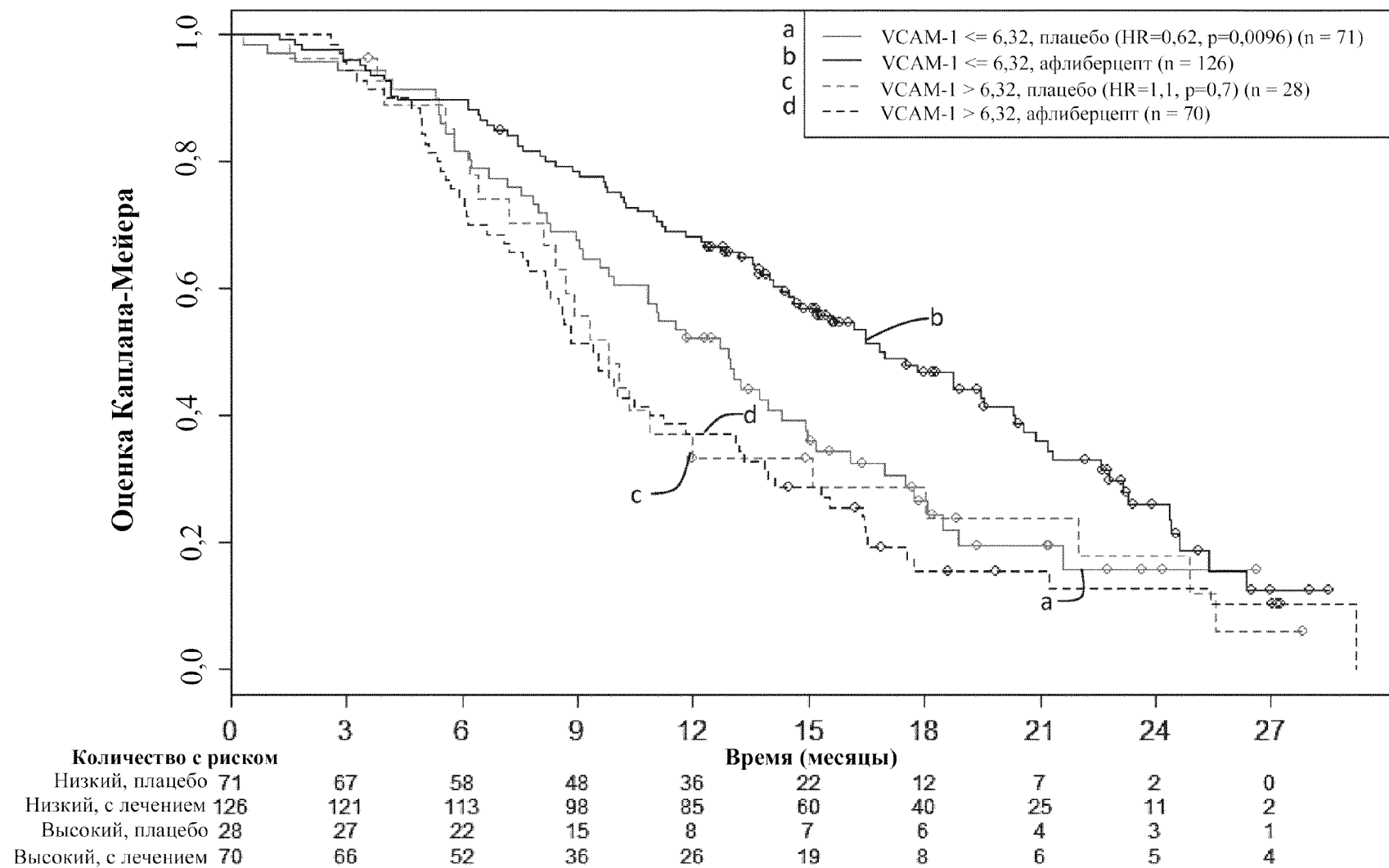
Общая модель (HR=0,59, p=0,00021)

ФИГ. 1



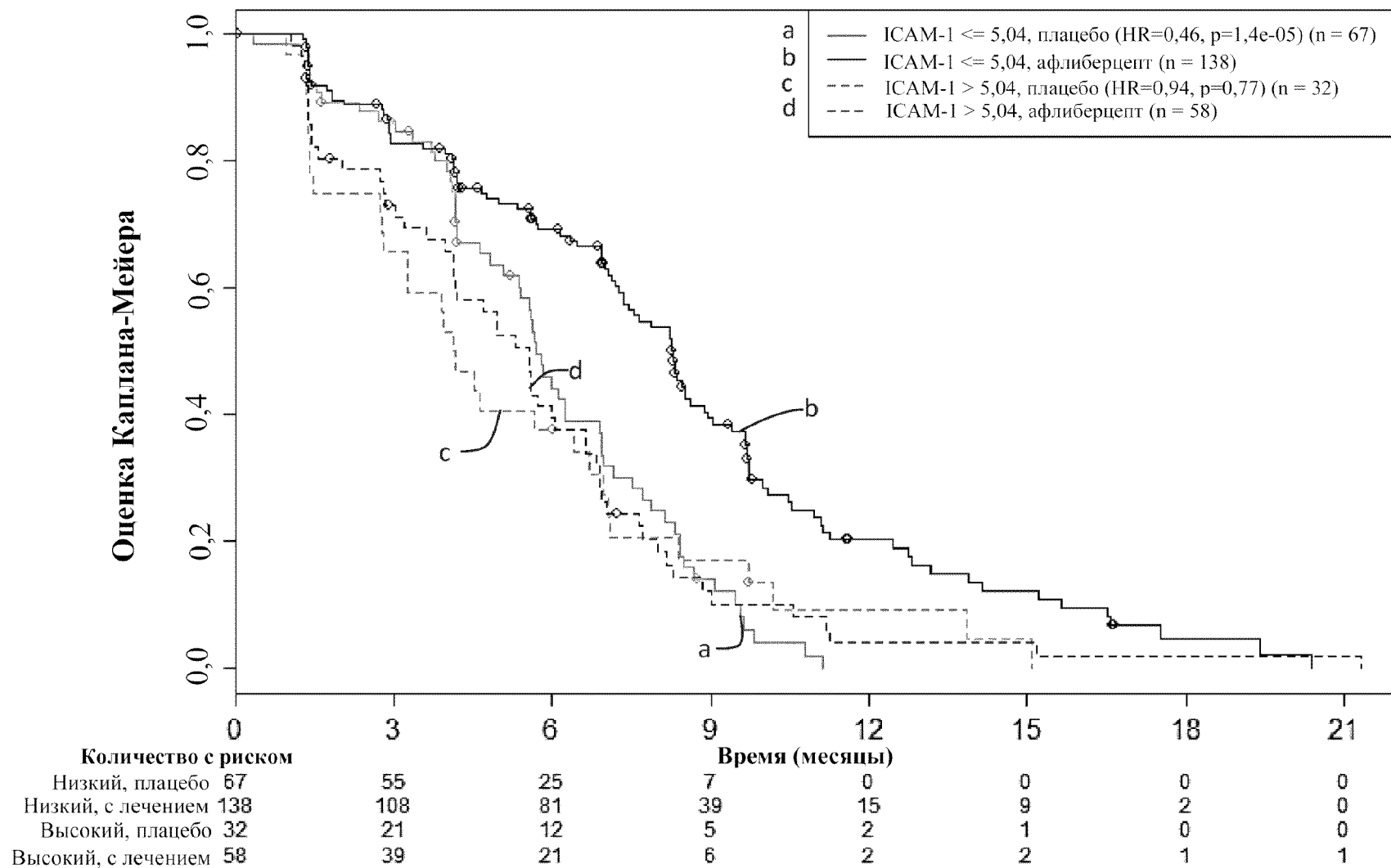
Общая модель (HR=0,79, p=0,11)

ФИГ. 2



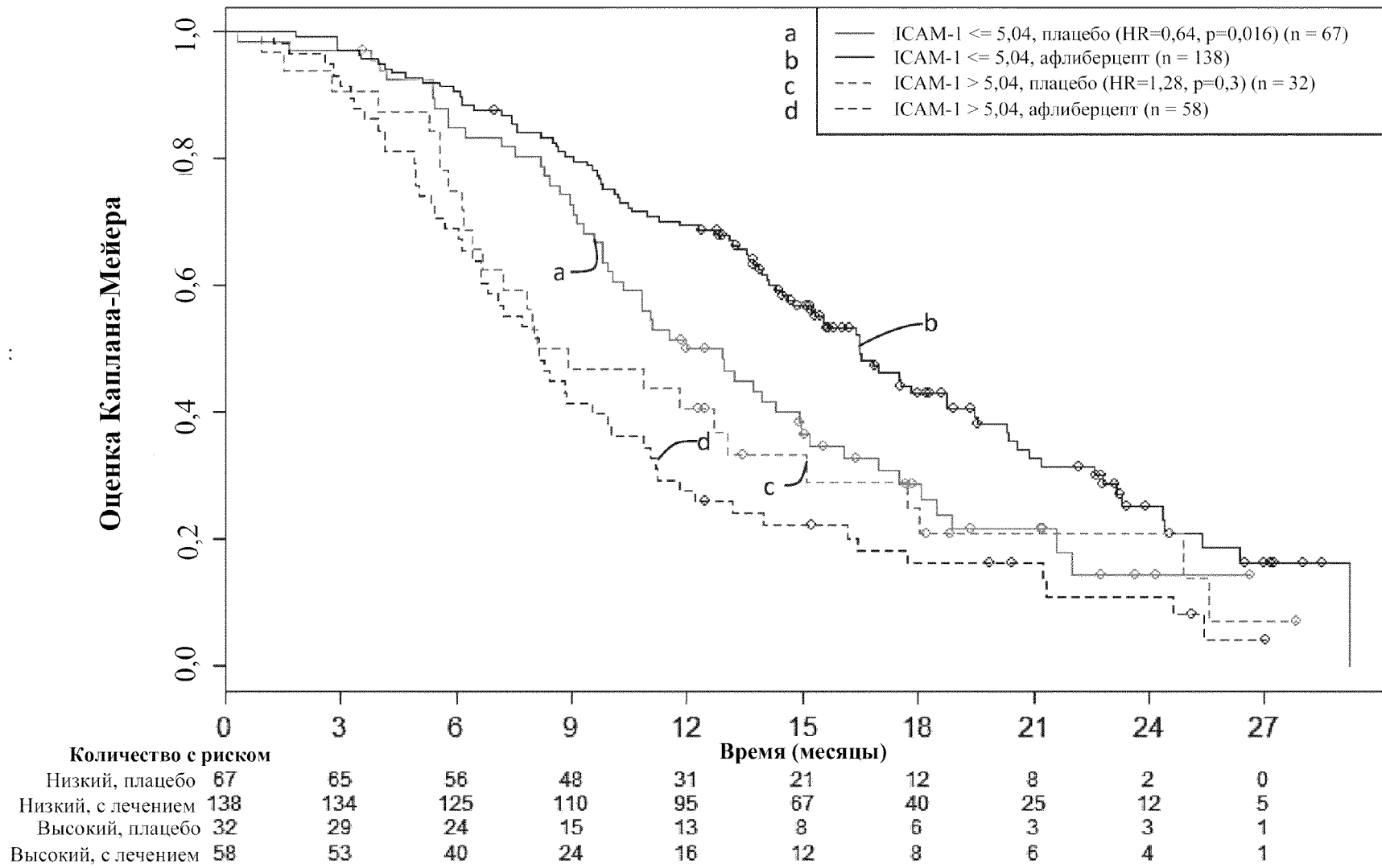
Общая модель (HR=0,59, p=0,00021)

ФИГ. 3



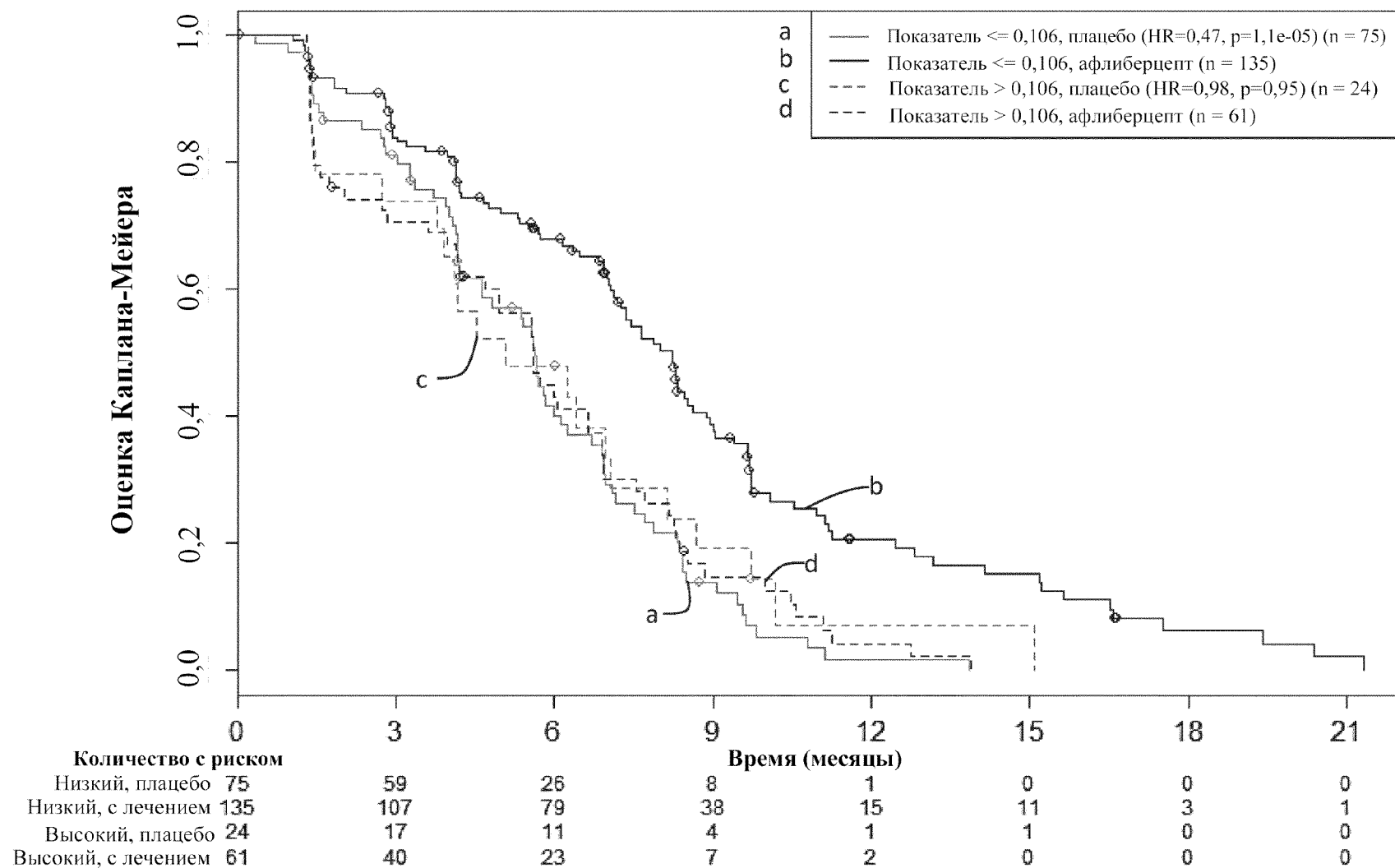
Общая модель (HR=0,79, p=0,11)

ФИГ. 4



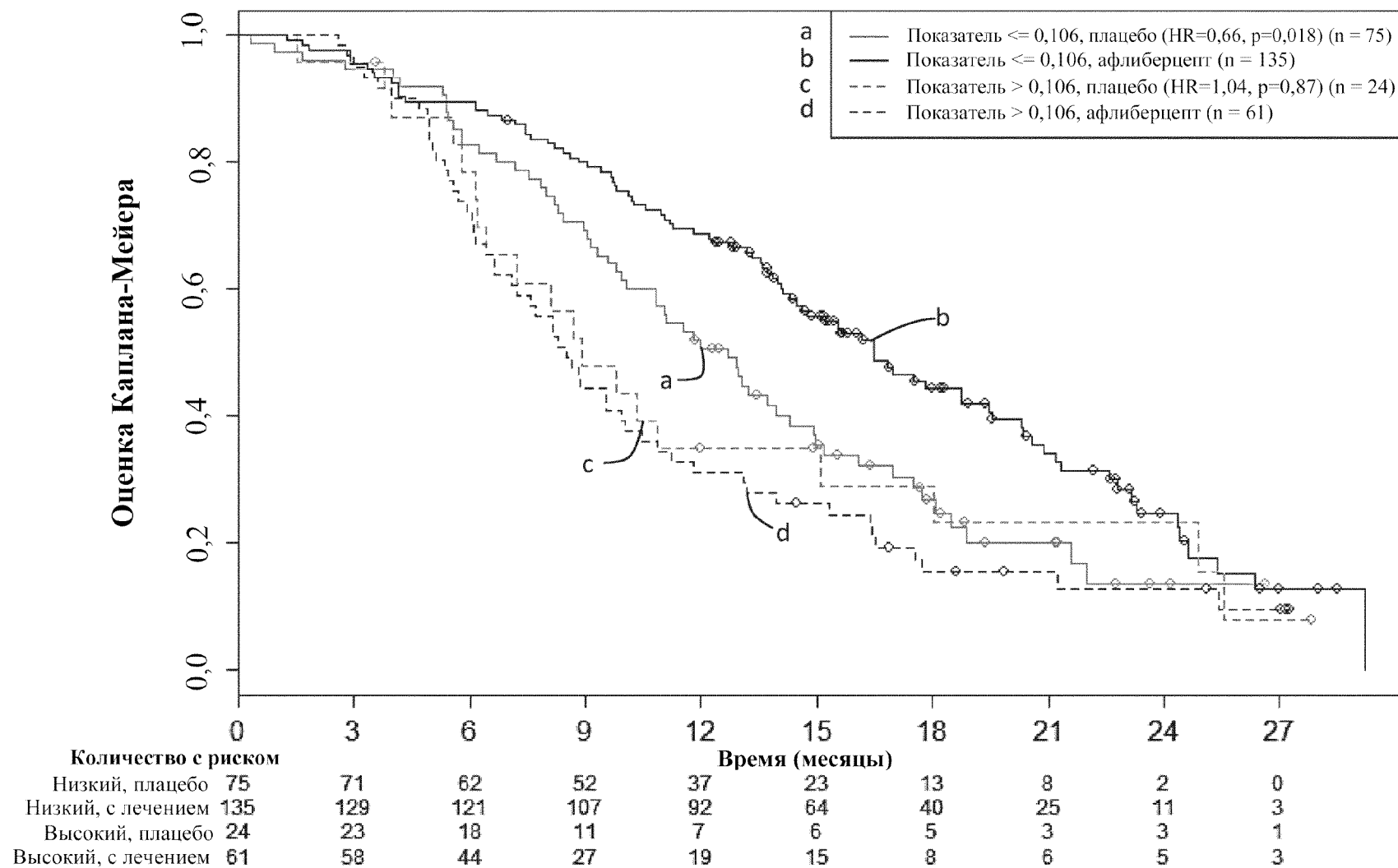
Общая модель (HR=0,59, p=0,00016) – скорректированная в отношении предсказывающих факторов

ФИГ. 5



Общая модель (HR=0,77, p=0,074) – скорректированная в
отношении предсказывающих факторов

ФИГ. 6



Общая модель (HR=0,62, p=0,00037)

ФИГ. 7

