

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.12.07

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

(21) Номер заявки
201790549

(22) Дата подачи заявки
2015.09.10

(54) **СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА НА ОСНОВАНИИ УРОВНЯ VEGF-A**

(31) **62/051,091; 62/099,630**

(32) **2014.09.16; 2015.01.05**

(33) **US**

(43) **2017.07.31**

(86) **PCT/US2015/049279**

(87) **WO 2016/044041 2016.03.24**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**РИДЖЕНЕРОН
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Симс Таша Николль, Гао Бо, Лови
Израэль (US)**

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

(56) Hidetoshi Hayashi et al.: "Biomarkers of reactive resistance and early disease progression during chemotherapy plus bevacizumab treatment for colorectal carcinoma", *Oncotarget*, 15 May 2014 (2014-05-15), page 2588, XP55163018, United States Retrieved from the Internet: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24809949> the whole document In particular: Title; Abstract; Figs. 2 and 3; Table 2; Methods section

SPRATLIN J.L. ET AL.: "Phase I Pharmacologic and Biologic Study of Ramucirumab (IMC-1121B), a Fully Human Immunoglobulin G1 Monoclonal Antibody Targeting the Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2", *JOURNAL*

OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 28, no. 5, 10 February 2010 (2010-02-10), pages 780-787, XP55230184, US ISSN: 0732-183X, DOI: 10.1200/JCO.2009.23.7537 the whole document In particular: Title; Abstract; Patients and methods section; Table 1; Page. 783-784, bridging paragraph

HEGDE P.S. ET AL.: "Predictive Impact of Circulating Vascular Endothelial Growth Factor in Four Phase III Trials Evaluating Bevacizumab", *CLINICAL CANCER RESEARCH*, vol. 19, no. 4, 20 November 2012 (2012-11-20), pages 929-937, XP55230578, US ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2535 the whole document In particular: Title; Abstract; Patients and methods section; Table 1; Figs. 1 and 2

JÜRGENSMEIER J.M. ET AL.: "Prognostic and predictive value of VEGF, sVEGFR-2 and CEA in mCRC studies comparing cediranib, bevacizumab and chemotherapy", *BRITISH JOURNAL OF CANCER*, vol. 108, no. 6, 28 February 2013 (2013-02-28), pages 1316-1323, XP55230575, GB ISSN: 0007-0920, DOI: 10.1038/bjc.2013.79 the whole document In particular: Title; Abstract; Patients and methods section; Tables 1 and 2; Figs. 1-3

WEIJING SUN ET AL.: "Ziv-aflibercept in metastatic colorectal cancer", *BIOLOGICS: TARGETS AND THERAPY*, 1 December 2013 (2013-12-01), page 13, XP55230180, DOI: 10.2147/BTT.S39360 the whole document In particular: Title; Abstract; p. 14, column 2, lines 26-33; pp. 17-19, contain several sections discussing ziv-aflibercept and its use in combination with e.g. FOLFIRI

(57) Изобретение относится к способу лечения или диагностики метастатического колоректального рака (мКРР), где способ включает введение антагониста VEGF пациенту, где пациент был отобран для лечения на основании демонстрируемого уровня VEGF-A, равного или выше 88 пг/мл, где антагонист VEGF представляет собой VEGF Trap, содержащий один или более иммуноглобулин (Ig)-подобных доменов VEGFR1, один или более Ig-подобных доменов VEGFR2 и домен мультимеризации.

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к применению предиктивных и прогностических биомаркеров для выявления и лечения метастатической злокачественной опухоли у пациентов.

Предшествующий уровень техники

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) представляет собой цитокин, участвующий в ангиогенезе. Лиганд VEGF-A взаимодействует с рецептором-1 VEGF (VEGFR1) и VEGFR2, иницируя тем самым ангиогенный путь передачи сигнала в нормальной и опухолевой сосудистой системе. Известно, что антагонисты VEGF являются полезными для лечения ряда заболеваний и нарушений, включая злокачественные опухоли, заболевания глаз и другие состояния, включающие избыточный, нежелательный или неуместный ангиогенез. Примером антагониста VEGF является афлиберцепт (также известный как VEGF Trap; или зив-афлиберцепт, который продается как ZALTRAP®, Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY). Афлиберцепт представляет собой химерную молекулу на основе рецептора VEGF, содержащую домен 2 из VEGFR1, слитый с доменом 3 из VEGFR2, который, в свою очередь, присоединен через шарнирную область к домену Fc(a) IgG1 человека. Зив-афлиберцепт одобрен для лечения метастатического колоректального рака и также разрабатывается для лечения других раковых состояний. VEGF Trap описан, например, в патенте США № 7070959; см. также Holash et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:11393-11398 (2002).

На сегодняшний день нет подтвержденных предиктивных биомаркеров устойчивости или восприимчивости к ингибированию VEGF. Хотя антагонисты VEGF показали большие перспективы при лечении злокачественных опухолей, необходимы подтвержденные биомаркеры, которые предсказывают эффективность анти-VEGF терапии, для эффективного выявления и отбора подгрупп пациентов, благоприятно реагирующих на анти-VEGF терапию. Таким образом, в данной области существует неудовлетворенная потребность для идентификации и подтверждения предиктивных и прогностических биомаркеров у пациентов с метастатической злокачественной опухолью, которым вводят анти-VEGF терапию.

Краткая сущность изобретения

По одному из аспектов настоящего изобретения предлагается способ лечения метастатического колоректального рака (мКРР), где способ включает введение антагониста VEGF пациенту, где пациент был отобран для лечения на основании демонстрируемого уровня VEGF-A, равного или выше 88 пг/мл, где антагонист VEGF представляет собой VEGF Trap, содержащий один или более иммуноглобулин (Ig)-подобных доменов VEGFR1, один или более Ig-подобных доменов VEGFR2 и домен мультимеризации.

По другому аспекту настоящего изобретения предлагается способ выявления пациента с метастатическим колоректальным раком (мКРР), который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию, где способ включает получение образца от пациента; и измерение в образце уровня VEGF-A; где повышенный уровень экспрессии VEGF-A, перед лечением антагонистом VEGF, составляющий 88 пг/мл или выше, идентифицирует пациента как пациента, который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию, где антагонист VEGF представляет собой VEGF Trap, содержащий один или более иммуноглобулин (Ig)-подобных доменов VEGFR1, один или более Ig-подобных доменов VEGFR2 и домен мультимеризации.

По другому аспекту настоящего изобретения предлагается способ диагностики метастатического колоректального рака (мКРР), включающий получение образца от пациента и измерение в образце уровня VEGF-A, равного или выше 88 пг/мл, тем самым, диагностируя любого пациента с уровнем VEGF-A, равным или выше 88 пг/мл, как имеющего мКРР.

В некоторых вариантах осуществления анти-VEGF терапия включает введение антагониста VEGF нуждающемуся в этом индивидууму. Антагонист VEGF, применяемый со способами по настоящему изобретению, может быть антителом к VEGF, антителом к рецептору VEGF или химерной молекулой на основе рецептора VEGF (VEGF Trap). В определенных вариантах осуществления антагонист VEGF представляет собой зив-афлиберцепт.

В некоторых вариантах осуществления анти-VEGF терапию можно вводить в комбинации с химиотерапевтическим средством и/или схемой лечения. Примеры химиотерапевтических средств/схем лечения включают фоллиниевую кислоту, 5-фторурацил и оксалиплатин (т.е. схему FOLFOX) и фоллиниевую кислоту, 5-фторурацил и иринотекан (т.е. схему FOLFIRI).

В определенных вариантах осуществления образец, полученный от пациента, выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки и плазмы.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения будут понятны из обзора последующего подробного описания.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет собой график изменений отношения рисков (HR) в группе/группах с "высоким" биомаркером. Группу с "высоким" биомаркером определяли по пороговым значениям в диапазоне концентраций биомаркера VEGF в плазме от 88 до 1140 пг/мл в подгруппе пациентов с метастатическим колоректальным раком (мКРР) в фазе 3 исследования пациентов с мКРР, получавших афлиберцепт в комбинации с FOLFIRI;

фиг. 2 представляет собой график изменений HR в группе/группах с "высоким" биомаркером.

Группу с "высоким" биомаркером определяли по пороговым значениям в диапазоне концентраций биомаркера IL-8 в плазме (в пг/мл) от 5,1 до 111 пг/мл в подгруппе пациентов с мКРР в фазе 3 исследования пациентов с мКРР, получавших афлиберцепт в комбинации с FOLFIRI;

на фиг. 3 представлена корреляция высокого или низкого уровней интерлейкина-6 (IL-6) с общей выживаемостью у пациентов с раком яичников в фазе 2 исследования пациентов с распространенным раком яичников, получавших монотерапию афлиберцептом.

Подробное описание

Перед тем как будет описано настоящее изобретение, следует понимать, что данное изобретение не ограничено описанными конкретными способами и экспериментальными условиями, поскольку такие способы и условия могут варьировать. Также следует понимать, что терминология, применяемая в настоящем документе, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не является ограничивающей, поскольку объем настоящего изобретения ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Если не определено иначе, все технические и научные термины, применяемые в настоящем документе, имеют то же самое значение, в котором их обычно понимает специалист в области, к которой относится данное изобретение. Как применяют в настоящем документе, термин "приблизительно" при использовании по отношению к конкретному указанному числовому значению означает, что значение может изменяться от указанного значения не более чем на 1%. Например, как применяют в настоящем документе, выражение "приблизительно 100" включает 99 и 101 и все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т.д.).

Хотя в практическом осуществлении настоящего изобретения можно использовать любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, что описаны в настоящем документе, предпочтительные способы и материалы описаны здесь. Все публикации, упомянутые в настоящем документе, включены в настоящий документ в качестве ссылки для описания в полном объеме.

Предиктивные и прогностические биомаркеры.

Настоящее изобретение частично основано на идентификации конкретных биомаркерных белков, уровни экспрессии которых (более высокие или более низкие, чем медианы уровней экспрессии) у пациентов со злокачественной опухолью оказались коррелированными с повышенной общей выживаемостью (OS) после лечения антиангиогенным средством. В частности, были идентифицированы конкретные белковые биомаркеры, которые, когда они экспрессируются на более высоких или более низких уровнях у пациентов с метастатическим колоректальным раком (мКРР), коррелированы с повышенной общей выживаемостью таких пациентов после лечения антагонистом VEGF зив-афлиберцептом. Примером биомаркера, который можно использовать в контексте настоящего изобретения для выявления пациентов, которые могут благоприятно ответить на лечение зив-афлиберцептом, является VEGF-A. В определенных вариантах осуществления оказалось, что пациенты с более высокими уровнями VEGF-A по сравнению с уровнем экспрессии VEGF-A у пациентов с мКРР без лечения антагонистом VEGF, имеют улучшенные результаты выживаемости при лечении анти-VEGF терапией. В определенных вариантах осуществления повышения или сниженную экспрессию одного или нескольких биомаркеров можно использовать в качестве компонента комплекса признаков для выявления пациентов, которые могут благоприятно ответить на лечение зив-афлиберцептом. Например, комплекс признаков может включать белки пути VEGF (такие как VEGF-R2 и VEGF-R3) или маркеры, связанные с воспалением, такие как фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (MIF) и сурфактантный белок D (SPD).

В связанном аспекте настоящее изобретение относится к идентификации конкретных белковых биомаркеров, которые, когда они экспрессируются на более высоких или более низких уровнях по сравнению с медианными уровнями у пациентов с распространенным раком яичников, коррелированы с повышенной общей выживаемостью таких пациентов после лечения антагонистом VEGF зив-афлиберцептом. Примером биомаркера, который можно использовать в контексте настоящего изобретения для выявления пациентов, которые могут благоприятно ответить на лечение зив-афлиберцептом, является цитокин интерлейкин-6 (IL-6). В определенных вариантах осуществления оказалось, что пациенты с более низкими уровнями IL-6 по сравнению с медианным уровнем экспрессии IL-6 у пациентов с распространенным раком яичников без лечения антагонистом VEGF имеют улучшенные результаты выживаемости при лечении анти-VEGF терапией.

Как применяют в настоящем документе, "предиктивный" биомаркер относится к биомаркеру, который дает информацию об эффективности терапевтического вмешательства у пациента. Предиктивный биомаркер может также быть мишенью для терапии. Предиктивный биомаркер можно использовать для отбора пациентов, конкретно, для выявления пациентов, которые будут благоприятно реагировать на конкретную терапию. В контексте настоящего изобретения предиктивный биомаркер включает белковый биомаркер с повышенной или сниженной экспрессией, которая коррелирует с улучшенным результатом выживаемости пациента со злокачественной опухолью (такой как метастатический колоректальный рак или рак яичников) и получавшего анти-VEGF терапию по сравнению с аналогичным пациентом, не получавшим анти-VEGF терапию. Примером предиктивного биомаркера, обнаруженного в исследовании, приведенном в качестве примера в настоящем документе, является VEGF-A. Пациент с мКРР, у которого

есть повышенная экспрессия VEGF-A и который получал зив-афлиберцепт, имеет более высокую вероятность общей выживаемости по сравнению с пациентом с мКРР, не получавшим зив-афлиберцепт. Другим примером предиктивного маркера является IL-6. Пациент с раком яичников, у которого есть повышенная экспрессия IL-6 и который получал зив-афлиберцепт, имеет более низкую вероятность общей выживаемости по сравнению с пациентом с раком яичников, не получавшим зив-афлиберцепт. Дополнительные примеры предиктивных биомаркеров включают VEGF-R2, VEGF-R3, SPD и MIF. Некоторые биомаркеры могут быть классифицированы и как предиктивные, и как прогностические. Примером биомаркера, который может быть классифицирован и как предиктивный, и как прогностический в отношении лечения злокачественных опухолей антагонистом VEGF, является IL-8.

Настоящее изобретение также относится к идентификации конкретных прогностических биомаркеров, которые коррелируют с общей выживаемостью при мКРР. Прогностические биомаркеры включают белки, которые, когда они экспрессируются на уровнях более высоких или более низких, чем нормальные уровни, у пациентов с метастатическим колоректальным раком (мКРР), коррелируют с повышенной общей выживаемостью пациентов вне зависимости от лечения. Примеры прогностических биомаркеров, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения для выявления пациентов с потенциально повышенной общей выживаемостью при мКРР, включают ангиопоэтин-2 (Ang-2), С-реактивный белок (CRP) и NRP1.

Как применяют в настоящем документе, "прогностический" биомаркер относится к биомаркеру, который предоставляет информацию об исходе злокачественной опухоли у пациента в общем, вне зависимости от лечения. Прогностический биомаркер может давать информацию о рецидиве у пациентов, которые получали радикальное лечение. В некоторых вариантах осуществления измененная экспрессия прогностического биомаркера коррелирует с выживаемостью без прогрессирования у пациента с метастатическим заболеванием. В контексте настоящего изобретения термин "прогностический" биомаркер относится к измененной экспрессии белкового биомаркера, которая коррелирует с неблагоприятным прогнозом метастатической злокачественной опухоли у пациента. Например, в настоящем документе показано, что пациенты с мКРР с высокими уровнями Ang-2 или CRP в плазме имели неблагоприятный прогноз мКРР (например, сниженную вероятность выживания) по сравнению с пациентами с низкими уровнями Ang-2 или CRP, вне зависимости от того, лечили ли пациентов анти-VEGF терапией или нет.

Уровень предиктивных и прогностических биомаркеров можно определять у пациента напрямую или опосредованно, измеряя абсолютное или относительное количество биомаркера в образце ткани, образце опухоли (например, биопсии) или образце жидкости, полученном от пациента. Образец жидкости может быть выбран из группы, состоящей из крови, плазмы и сыворотки. Можно измерять количество биомаркера в образце с использованием таких способов, как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), или других способов детекции белка и аналитических способов, а также измеряя количество нуклеиновой кислоты (например, мРНК), которая кодирует белковый биомаркер. Анализы, которые включают прямое измерение или детекцию конкретных белковых биомаркеров в образце, можно производить с использованием, например, антител или других антиген-связывающих белков, специфичных к биомаркеру. Такие антитела или антиген-связывающие белки могут быть мечены детектируемым соединением, таким как флуорофор или радиоактивное соединение. Таким образом, настоящее изобретение также относится к антителам и антиген-связывающим белкам, которые специфически связываются с любым из предиктивных или прогностических биомаркеров, описываемых в настоящем документе, а также к наборам и диагностическим способам, включающим такие антитела и их применение.

Референсный уровень экспрессии определенного биомаркера можно определять в виде отдельного значения или диапазона значений, которые определяют на основании уровня экспрессии измеряемого биомаркера, например, в популяции здоровых индивидуумов или в популяции индивидуумов, нуждающихся в терапии. По конкретным вариантам осуществления настоящего изобретения референсный уровень экспрессии биомаркера определяют на основании уровня экспрессии измеряемого биомаркера в популяции индивидуумов, нуждающихся в терапии зив-афлиберцептом. Анализируемая популяция может быть разделена на процентиля на основании измеренного уровня экспрессии конкретного биомаркера. Референсный уровень в некоторых случаях можно определять в виде процентиля, который обеспечивает наилучшее отделение пациентов, страдающих от злокачественной опухоли, для которых лечение зив-афлиберцептом будет, по существу, эффективным по сравнению с пациентами, страдающими от злокачественной опухоли, для которых лечение зив-афлиберцептом является менее эффективным или неоптимально эффективным. Референсный уровень экспрессии конкретного биомаркера может меняться (i) в соответствии с размером исследованной популяции и (ii) в зависимости от способа, применяемого для измерения экспрессии биомаркера.

Антагонисты VEGF.

Как применяют в настоящем документе, выражение "антагонист VEGF" обозначает любую молекулу, которая блокирует, уменьшает нормальную биологическую активность фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) или рецептора VEGF или препятствует ей. Антагонисты VEGF включают молекулы, которые препятствуют взаимодействию VEGF и природного рецептора VEGF, например молекулы, которые связываются с VEGF или рецептором VEGF и предотвращают или другим образом препятствуют взаи-

модействию между VEGF и рецептором VEGF. Конкретные примеры антагонистов VEGF включают антитела к VEGF (например, бевацизумаб [Авастин®]), антитела к рецептору VEGF (например, антитела к VEGFR1, антитела к VEGFR2 и т.д.) и химерные молекулы на основе рецептора VEGF (в настоящем документе также называемые "VEGF-Трап").

Химерные молекулы на основе рецептора VEGF включают химерные полипептиды, которые содержат два или более иммуноглобулин (Ig)-подобных доменов рецептора VEGF, таких как VEGFR1 (также обозначаемый как Flt1) и/или VEGFR2 (также обозначаемый как Flk1 или KDR), и могут также содержать домен мультимеризации (например, домен Fc, который облегчает мультимеризацию [например, димеризацию] двух или более химерных полипептидов). Пример химерной молекулы на основе рецептора VEGF представляет собой молекулу, обозначаемую как VEGFR1R2-FcΔC1(a) (также известную как афлиберцепт или зив-афлиберцепт, которая продается под наименованием ZALTRAP®), которая кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты из SEQ ID NO: 1. VEGFR1R2-FcΔC1(a) содержит три компонента: (1) компонент VEGFR1, включающий аминокислоты от 27 до 129 из SEQ ID NO: 2; (2) компонент VEGFR2, включающий аминокислоты от 130 до 231 из SEQ ID NO: 2; и (3) компонент мультимеризации ("FcΔC1(a)"), включающий аминокислоты от 232 до 457 из SEQ ID NO: 2 (С-концевую аминокислоту из SEQ ID NO: 2 [т.е. K458] можно включать или не включать в антагонист VEGF, применяемый в способах по изобретению; см., например, патент США 7396664). Аминокислоты 1-26 из SEQ ID NO: 2 представляют собой сигнальную последовательность.

Биомаркеры и способы лечения метастатической злокачественной опухоли.

Настоящее изобретение относится к способам лечения злокачественной опухоли у индивидуума, например, распространенной злокачественной опухоли, метастатической злокачественной опухоли и т.д.; способы по данному аспекту изобретения включают введение антагониста VEGF индивидууму, где индивидууму был поставлен диагноз злокачественной опухоли (например, метастатического колоректального рака, распространенного рака яичников) и индивидуум был отобран для лечения антагонистом VEGF на основании продемонстрированной повышенной экспрессии биомаркера, где повышенную экспрессию биомаркера определяют на основании сравнения с более низким уровнем экспрессии (т.е. референсным уровнем) соответствующего биомаркера у индивидуумов с метастатической злокачественной опухолью. Антагонист VEGF может включать химерную молекулу на основе рецептора VEGF (VEGF Трап). Примером VEGF Трап является зив-афлиберцепт. В определенных вариантах осуществления пациенту можно вводить антагонист VEGF в комбинации со схемой химиотерапии, включающей лейковорин (также известный как фолиниевая кислота), 5-фторурацил и иринотекан (комбинация которых обозначается как FOLFIRI).

Термины "индивидуум" и "пациент" в настоящем документе используются взаимозаменяемо и относятся к человеческим индивидуумам, нуждающимся в лечении злокачественной опухоли, предпочтительно метастатической злокачественной опухоли.

Настоящее изобретение также относится к способам для выявления пациента с метастатическим колоректальным раком (мКРР), который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию. Способы включают получение образца от пациента и измерение в образце уровня биомаркера, такого как VEGF-A, VEGF-R2, VEGF-R3, MIF и/или IL-8, где повышенная экспрессия биомаркера по сравнению с более низким уровнем экспрессии (т.е. референсным уровнем) биомаркера у индивидуумов с мКРР идентифицирует пациента как пациента, который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию. В альтернативных вариантах осуществления способы включают получение образца от пациента и измерение в образце уровня биомаркера, такого как SPD, где более низкая экспрессия биомаркера по сравнению с более высоким уровнем экспрессии (т.е. референсным уровнем) биомаркера у индивидуумов с мКРР, идентифицирует пациента как пациента, который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию.

Настоящее изобретение также относится к способам для выявления пациента с распространенным раком яичников, который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию. Способы включают получение образца от пациента и измерение в образце уровня биомаркера, такого как IL-6, где вариантная экспрессия биомаркера по сравнению с медианным уровнем экспрессии (т.е. референсным уровнем) биомаркера у индивидуумов с раком яичников идентифицирует пациента как пациента, который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию.

Как применяют в настоящем документе, пациент, "который может благоприятно ответить" на анти-VEGF терапию, относится к пациенту со злокачественной опухолью (например, мКРР, раком яичников), который после введения указанной анти-VEGF терапии, как ожидается, продемонстрирует эффект, выбранный из группы, состоящей из повышенной или улучшенной общей выживаемости по сравнению с пациентом со злокачественной опухолью, не получавшим анти-VEGF терапию, повышенной выживаемости без прогрессирования, регрессии опухоли и сниженной вероятности рецидива опухоли. Улучшенное время выживания означает приблизительно 1 неделю, 2 недели, 4 недели, 2 месяца, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 36, 40 месяцев или более длительное выживание по сравнению с аналогичными индивидуумами со злокачественной опухолью, не получавшими анти-VEGF терапию.

Настоящее изобретение также относится к способам определения прогноза мКРР у индивидуума.

Способы по данному аспекту изобретения включают получение образца от индивидуума и измерение в образце уровня биомаркера, где вариантная экспрессия биомаркера (повышенная или сниженная экспрессия) по сравнению с медианным уровнем экспрессии соответствующего биомаркера у индивидуумов с мКРР идентифицирует пациента как пациента с неблагоприятным прогнозом. В определенных вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из ангиопоэтина-2 (Ang-2) и С-реактивного белка (CRP). В определенных вариантах осуществления сниженная экспрессия биомаркера идентифицирует пациента как пациента с хорошим прогнозом. В определенных вариантах осуществления хороший прогноз включает эффект, выбранный из группы, состоящей из повышенной общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, сниженного роста опухоли, регрессии опухоли и ингибирования рецидива опухоли у пациента. Например, в настоящем исследовании авторы изобретения открыли, что низкие уровни Ang-2 или CRP в плазме коррелировали с более высокой вероятностью общей выживаемости пациента с мКРР.

Примеры

Следующие примеры предлагаются для того, чтобы предоставить специалистам в данной области полное раскрытие и описание того, каким образом производить и использовать способы и композиции по изобретению, и не предназначены для ограничения объема того, что авторы считают своим изобретением. Были предприняты усилия для обеспечения точности в отношении использованных чисел (например, количество, температуры и т.д.), но необходимо учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура приведена в градусах Цельсия, и давление находится на уровне или вблизи атмосферного.

Пример 1. Идентификация потенциальных предиктивных и прогностических биомаркеров в исходных образцах плазмы из фазы 3 клинического испытания VEGF Trap у пациентов с метастатическим колоректальным раком.

Введение.

ZALTRAP® (зив-афлиберцепт, также известный как VEGF Trap), химерный белок VEGF-R1-R2-FC, который связывается с лигандами VEGFR1 и VEGFR2 (например, VEGF-A, PLGF и VEGF-B) и нейтрализует их, был одобрен для лечения метастатического колоректального рака (мКРР) (особенно в комбинации с FOLFIRI [химиотерапевтическая схема лечения, включающая иринотекан, 5-фторурацил и лейковорин] у пациентов, у которых заболевание прогрессировало после предшествующей терапии, включая оксалиплатин).

Анализировали образцы плазмы и опухоли от 1226 пациентов из базового рандомизированного и плацебо-контролируемого предрегистрационного исследования FOLFIRI ± зив-афлиберцепт (VELOUR, ClinicalTrials.gov идентификатор: NCT00561470), с целью выявления и прогностических, и предиктивных факторов. Этот пример излагает анализ исходных образцов плазмы для выявления возможных биомаркеров ответа на зив-афлиберцепт.

Результаты.

Проводили ретроспективный анализ белковых биомаркеров в 553 исходных образцах плазмы. Популяция, представленная образцами, была аналогична общей популяции VELOUR. Образцы анализировали на уровне 98 аналитических веществ с использованием мультиплексных иммунологических анализов и ELISA. Величины биомаркеров делили на две группы "высоких" и "низких" биомаркеров на основании медианного значения, а затем анализировали в отношении общей выживаемости (OS) пациента после лечения.

Для OS, отношение рисков (HR) составило 0,809 в популяции с биомаркерами в плазме по сравнению с HR=0,817 в общей популяции VELOUR. Для выживаемости без прогрессирования (PFS), HR=0,752 в популяции с биомаркерами в плазме по сравнению с HR=0,758 у VELOUR. Демографические данные пациентов, включая статус согласно Восточной объединенной группе онкологов (ECOG), были сходны между группами. Были выявлены несколько биомаркеров в качестве потенциальных предиктивных или прогностических (или обоих) маркеров для OS, с HR <0,7 (уровень ложноположительных результатов 0,05 и p для взаимодействий <0,10). Ни одна подгруппа биомаркеров не соответствовала более худшей OS при лечении зив-афлиберцептом.

Восемь биомаркеров были идентифицированы в качестве потенциально предиктивных маркеров для OS (отношение рисков (HR) <0,7; p<0,01, и они были значимыми даже после поправки на множественное тестирование), в то время как 23 биомаркера были идентифицированы в качестве потенциально прогностических маркеров для OS (p<0,01). Высокие уровни VEGF-A (с медианой=142 пг/мл) выступали в качестве одного из потенциальных предиктивных биомаркеров ответа на терапию зив-афлиберцептом. Табл. 1 показывает первичный анализ медианы общей выживаемости контрольных пациентов и пациентов, получавших зив-афлиберцепт, с высокими или низкими уровнями VEGF-A в плазме.

Таблица 1

Первичный анализ медианы общей выживаемости контроля и пациентов, принимавших зив-афлиберцепт, с высокими или низкими уровнями VEGF-A в плазме

	Медиана OS для контроля (95% ДИ)	Медиана OS для зив-афлиберцепта (95% ДИ)	HR (95% ДИ)	P-значение логарифмического рангового критерия
Всего: число событий, n/N (%)	207/265 (78,1%)	195/288 (67,7%)		
VEGF (низкий уровень): число событий, n/N (%)	95/132 (72%)	96/142 (67,6%)		
VEGF _ (низкий уровень)	13,1 (от 10,8 до 17,1)	12,8 (от 11,9 до 16,2)	0,963 (от 0,725 до 1,28)	0,7947
VEGF (высокий уровень): число событий, n/N (%)	112/133 (84,2%)	99/146 (67,8%)		
VEGF _ (высокий уровень)	9,7 (от 8,5 до 11,3)	12,5 (от 10,4 до 15,9)	0,644 (от 0,49 до 0,845)	0,0013

Как показано в табл. 1, пациенты с высокими уровнями VEGF-A в плазме, получавшие зив-афлиберцепт, показали более высокую общую выживаемость, чем контрольная группа. Рассчитанное HR составило 0,644 (значение p для взаимодействия: 0,056), что указывает на VEGF-A, как на потенциальный предиктивный маркер. Сопоставимые результаты были показаны в отношении PFS (HR=0,599, 95% ДИ: 0,453-0,792, p=0,001). Аналогично, частота общего ответа (ORR) повысилась от 6,2% в контрольной группе до 22,7% в группе, получавшей афлиберцепт, у пациентов с высокими уровнями VEGF-A.

Использовали значения VEGF в диапазоне 88-1140 пг/мл (классифицированные как "высокие" для определения пороговых значений с 5% пошаговым наращиванием. HR для OS было стабильным при пороговом уровне VEGF <222 пг/мл (фиг. 1). При более высоких уровнях VEGF (>335 пг/мл) воздействие зив-афлиберцепта было не таким выраженным (максимально 20% пациентов).

Белки пути VEGF, VEGF-R2 и VEGF-R3, были идентифицированы как потенциальные предиктивные биомаркеры. У пациентов с высоким SVEGF-R2 в плазме (медиана: 4,2 пг/мл), которых лечили зив-афлиберцептом, была обнаружена лучшая OS, чем в контрольной группе (HR=0,686, 95% ДИ: 0,49-0,85, p=0,008). Сопоставимые результаты были получены для PFS (HR=0,679, 95% ДИ: 0,516-0,893, p=0,005). У пациентов с высоким SVEGF-R3 в плазме (медиана: 35 пг/мл), которых лечили зив-афлиберцептом, была обнаружена лучшая OS, чем в контрольной группе (HR=0,686; p=0,006). Сопоставимые результаты были получены для PFS (HR=0,711, 95% ДИ: 0,545-0,927, p=0,01).

Сурфактантный белок D (SPD) был идентифицирован как потенциальный предиктивный маркер. Пациенты с низкими уровнями SPD в плазме, которых лечили зив-афлиберцептом, показали более высокую общую выживаемость, чем контрольная группа (13,9 месяца по сравнению с 9,7 месяца; HR=0,598, 95% ДИ: 0,453-0,791, значение p <0,001). Сопоставимые результаты наблюдали для PFS (HR=0,581, 95% ДИ: 0,437-0,773, значение p <0,001). Частота общего ответа повысилась от 8,1% в контрольной группе до 25,6% в группе, получавшей афлиберцепт, у пациентов с низкими уровнями SPD.

Фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF) был идентифицирован как потенциальный предиктивный маркер. Пациенты с высоким MIF в плазме, которых лечили зив-афлиберцептом, показали более высокую общую выживаемость, чем контрольная группа (12,7 месяца по сравнению с 9,5 месяца; HR=0,67, 95% ДИ: 0,512-0,875, значение p: 0,003). Аналогичные результаты были показаны для PFS (HR=0,607, 95% ДИ: 0,463-0,797, значение p <0,001). Частота общего ответа повысилась от 10,5% в контрольной группе до 20,9% в группе, получавшей афлиберцепт, у пациентов с высокими уровнями MIF в плазме.

Эотаксин-1 (CCL11) был идентифицирован как потенциальный предиктивный маркер. Пациенты с высоким эотаксином-1 в плазме, которых лечили зив-афлиберцептом, показали более высокую вероятность выживания (HR: 0,661, 95% ДИ: 0,497-0,879; значение p=0,004). Аналогичные результаты были показаны для PFS (HR=0,701, 95% ДИ: 0,528-0,929, значение p=0,012). Частота общего ответа повыси-

лась от 8,7% в контрольной группе до 23,3% в группе, получавшей афлиберцепт, у пациентов с высокими уровнями эотаксина-1 в плазме. В многофакторном анализе, эотаксин-1 являлся предиктором ответа на зив-афлиберцепт.

Гепсин был идентифицирован как потенциальный предиктивный маркер. Пациенты с высокими уровнями гепсина в плазме, которых лечили зив-афлиберцептом, показали более высокую вероятность выживания (HR: 0,671, 95% ДИ: 0,511-0,881, значение $p=0,004$). Аналогичные результаты были показаны для PFS (HR=0,661, 95% ДИ: 0,501-0,871, значение $p=0,003$). Частота общего ответа повысилась от 10% в контрольной группе до 22,5% в группе, получавшей афлиберцепт, у пациентов с высокими уровнями гепсина в плазме. В многофакторном анализе гепсин являлся предиктором ответа на зив-афлиберцепт.

Некоторые биомаркеры были идентифицированы как потенциально и предиктивные, и прогностические. Интерлейкин-8 (IL-8) может быть предиктивным, а также прогностическим маркером. Пациенты с низкими уровнями IL-8 в плазме, которых лечили зив-афлиберцептом, показали более высокую общую выживаемость (9,4 месяца по сравнению с 8,0 месяцами; HR=0,632, 95% ДИ: 0,489-0,817, значение $p=0,0006$), чем контрольные пациенты. Сопоставимые результаты получили для PFS (4,9 месяца по сравнению с 3,9 месяца) с HR=0,694, 95% ДИ: 0,534-0,902, значение $p=0,005$). IL-8 был также идентифицирован как прогностический маркер. Было обнаружено, что пациенты с низкими уровнями IL-8 в плазме имеют лучшую OS (18,8 месяца по сравнению с 9,4 месяца для пациентов, получавших афлиберцепт, HR=2,319, $p=0$); и 19,8 месяца по сравнению с 8,0 месяцев для контроля, HR=4,48, $p=0$).

Значения IL-8 в пределах диапазона 5,1-111 пг/мл (классифицированные как "высокие") применяли для определения пороговых значений с 5% пошаговым наращиванием. HR для OS оставалось стабильным при пороговом значении IL-8 <49 пг/мл (фиг. 2). Наилучшее HR наблюдали при уровнях в пределах 20-31 пг/мл. При более высоких уровнях IL-8 (>63 пг/мл), воздействие зив-афлиберцепта было не таким выраженным (максимально 20% пациентов).

Нейропилин-1 (NRP1) может быть прогностическим маркером.

Было обнаружено, что пациенты с низким NRP1 в плазме имеют лучшую OS для пациентов, получавших афлиберцепт (18,7 месяца по сравнению с 10,0 месяцами, HR=2,104, $p<0,001$), и для контроля (14,2 месяца по сравнению с 9,0 месяцами, HR=2,032, $p<0,001$).

Ангиопоэтин 2 (Ang-2) и С-реактивный белок проявили себя как потенциальные прогностические маркеры.

Табл. 2 показывает первичный анализ медианы общей выживаемости контрольных пациентов и пациентов, получавших лечение, с высокими или низкими уровнями Ang-2.

Таблица 2

Первичный анализ медианы общей выживаемости контрольных пациентов и пациентов, получавших лечение, с высокими или низкими уровнями Ang-2

	Медиана OS для контроля (95% ДИ)	Медиана OS для зив-афлиберцепта (95% ДИ)	HR (95% ДИ)	P-значение логарифмического рангового критерия
Всего: число событий, n/N (%)	207/265 (78,1%)	195/288 (67,7%)		
Ang-2 (низкий уровень): число событий, n/N (%)	85/118 (72%)	87/152 (57,2%)		
Ang-2 (низкий уровень)	13,7 (от 11,7 до 17,7)	18 (от 14,4 до 21,8)	0,74 (от 0,549 до 0,998)	0,0475
Ang-2 (высокий уровень): число событий, n/N (%)	122/147 (83%)	108/136 (79,4%)		
Ang-2 (высокий уровень)	9,6 (от 9 до 11,3)	10,3 (от 8,5 до 12,2)	0,892 (от 0,687 до 1,159)	0,3894

Как показано в табл. 2, пациенты с низкими уровнями Ang-2 в плазме (<3,9 нг/мл) показали лучшие результаты выживаемости, чем пациенты с высокими уровнями Ang-2, вне зависимости от лечения. Высокие уровни Ang-2 коррелировали с плохим прогностическим эффектом как в контрольной подгруппе, так и в подгруппе пациентов с лечением (HR=1,83 у пациентов с лечением; HR=1,54 у контроля) (значе-

ние p для взаимодействий: 0,366). Не было обнаружено никаких статистически значимых предиктивных эффектов, ассоциированных с экспрессией Ang-2.

Табл. 3 показывает первичный анализ медианы общей выживаемости контрольных пациентов и пациентов, получавших лечение, с высокими или низкими уровнями CRP.

Таблица 3

Первичный анализ медианы общей выживаемости контрольных пациентов и пациентов, получавших лечение, с высокими или низкими уровнями CRP

	Медиана OS для контроля (95% ДИ)	Медиана OS для зив-афлиберцепта (95% ДИ)	HR (95% ДИ)	P-значение логарифмического рангового критерия
Всего: число событий, n/N (%)	207/265 (78,1%)	195/288 (67,7%)		
CRP (низкий уровень): число событий, n/N (%)	85/131 (64,9%)	76/145 (52,4%)		
CRP _ (низкий уровень)	17,4 (от 13,7 до 20,5)	19,1 (от 16,7 до 25,1)	0,765 (от 0,56 до 1,045)	0,0905
CRP (высокий уровень): число событий, n/N (%)	122/134 (91%)	119/143 (83,2%)		
CRP _ (высокий уровень)	8,6 (от 7,1 до 9,7)	9,4 (от 7,8 до 11,5)	0,763 (от 0,592 до 0,984)	0,0354

Как показано в табл. 3, пациенты с низкими уровнями CRP в плазме (<9,4 мкг/мл) показали лучшие результаты выживаемости, чем пациенты с высокими уровнями CRP, вне зависимости от лечения. Высокие уровни CRP коррелировали с плохим прогностическим эффектом как в контрольной подгруппе, так и в подгруппе пациентов с лечением (HR=2,553 у пациентов с лечением, $p<0,001$; и HR=2,773 у контроля, $p<0,001$). Не было обнаружено никакого предиктивного эффекта, ассоциированного с экспрессией CRP.

Ни одна подгруппа биомаркеров не соответствовала ухудшению OS при лечении зив-афлиберцептом.

Табл. 4 обобщает лучшие результаты по потенциальным предиктивным маркерам для лечения афлиберцептом.

Лучшие результаты по потенциальным предиктивным маркерам в исследовании

Биомаркер	Медиана (минимум, максимум)	Группа «высоким» или «низким» биомаркером	Отношение рисков (жив-афлиберцепт по сравнению с контролем)	Значение P*	Значение P-для взаимодействия
IL-8	20 пг/мл (2, 4504 пг/мл)	Высокий	0,63	$4,00 \times 10^{-4}$	0,022
MIF	0,3 нг/мл (0,015, 29 нг/мл)	Высокий	0,67	0,003	0,087
Эотаксин-1	73 пг/мл (27-487 пг/мл)	Высокий	0,66	0,0041	0,087
VEGF	142 пг/мл (25, 2350 пг/мл)	Высокий	0,64	0,0013	0,056
VEGFR2	4,2 пг/мл (1, 9 пг/мл)	Высокий	0,69	0,0082	0,157 [^]
VEGFR3	35 нг/мл (3, 125 пг/мл)	Высокий	0,69	0,0061	0,177 [^]
Гепсин	771 пг/мл (190-1860 пг/мл)	Высокий	0,69	0,0038	0,06
SPD	7,7 нг/мл (0,19, 85 нг/мл)	Низкий	0,60	$3,00 \times 10^{-4}$	0,003

* P - значения логарифмического рангового критерия были скорректированы по уровню ложноположительных результатов.

[^] VEGFR2 и VEGFR3 опустились ниже уровня значимости.

Табл. 5 обобщает некоторые из потенциальных прогностических маркеров в исследовании.

Потенциальные прогностические маркеры в исследовании

Биомаркер	Медиана (минимум, максимум)	Контрольная группа		Группа с зив-афлиберцептом	
		Отношение рисков («Высокий» по сравнению с «низким»)	Значение P	Отношение рисков («Высокий» по сравнению с «низким»)	Значение P
IL-8	20 пг/мл (2, 4504 пг/мл)	4,4810	<0,001	2,3189	<0,001
CRP	9,4 мг/мл (6, 390 пг/мл)	2,7732	<0,001	2,5535	<0,001
NRP1	160 нг/мл (34, 387 нг/мл)	2,0324	<0,001	2,104	<0,001
ANG2	3,9 нг/мл (1, 59 пг/мл)	1,5447	0,002	1,8293	<0,001

Выводы.

В настоящем исследовании были идентифицированы несколько предиктивных биомаркеров ответа на зив-афлиберцепт, в том числе, например, VEGF-A. Пациенты в группе с высоким VEGF-A (т.е. уровень в плазме >142 пг/мл), по-видимому, в наибольшей степени выиграли от лечения афлиберцептом. Аналогичные результаты наблюдали для VEGFR2 и VEGFR3. VEGFR2 и VEGFR3 могут быть интересны для дальнейшего исследования как компонент комплекса признаков. Однако выявили, что при наиболее высоких уровнях VEGF выгода уменьшается. Кроме того, несколько прогностических биомаркеров были также идентифицированы во время настоящего анализа. Подгруппы пациентов с повышенной экспрессией альтернативных ангиогенных факторов (например, Ang-2) или с повышенными воспалительными маркерами (например, CRP) коррелировали с плохим исходом. Низкий NRP-1 может быть прогностическим маркером для выживания. Образцы, содержащие высокие уровни маркеров пути VEGF, также коррелировали с плохим исходом в отсутствие лечения зив-афлиберцептом. Выявление соответствующих путей у пациентов будет важно для оптимизации эффективности способов комбинированного лечения.

Пример 2. Идентификация потенциальных биомаркеров в образцах сыворотки из фазы 2 клинического испытания VEGF Trap у пациентов с раком яичников.

В фазе 2 международного двойного слепого исследования распространенного рака яичников (ClinicalTrials.gov идентификатор: NCT00327171) афлиберцепт применяли в качестве монотерапии. Пациентам давали дозу, или 2 мг/кг, или 4 мг/кг афлиберцепта каждые две недели и наблюдали за общим ответом. Анализировали образцы сыворотки для выявления потенциальных предиктивных и прогностических маркеров. В этом примере сывороточные уровни интерлейкина-6 (IL-6) измеряли в подгруппе из 96 пациентов.

Исследование показало умеренный уровень ответов в 5% в обеих группах. Когда данные были стратифицированы на основании низких (<медианы) и высоких (>медианы) уровней IL-6 в сыворотке, стало очевидно, что пациенты с высокими уровнями IL-6 (>медианы) демонстрируют худший ответ (т.е. значительно более плохое выживание) по сравнению с пациентами с низкими уровнями IL-6 (<медианы) (фиг. 3). Результаты подтверждают корреляцию между высокими уровнями IL-6 и более плохим ответом на анти-VEGF терапию. Повышенные уровни IL-6 могут быть прямой или опосредованной причиной устойчивости к анти-VEGF терапии, наблюдаемой у определенных пациентов. Таким образом, результаты этого примера позволяют предположить, что скрининг пациентов со злокачественной опухолью на повышенные уровни IL-6 может выявлять конкретных пациентов, чей терапевтический исход можно было бы улучшить, сочетая анти-VEGF терапию с анти-IL-6 или анти-IL-6R терапией, таким образом противодействуя развитию резистентности к анти-VEGF терапии или замедляя ее развитие у этих пациентов.

Объем настоящего изобретения не ограничен конкретными вариантами осуществления, описываемыми в настоящем документе. Фактически, различные модификации по изобретению в дополнение к тем, что описаны в настоящем документе, будут понятны специалистам в данной области из вышеизложенного описания и прилагаемых чертежей. Такие модификации должны быть включены в объем прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения метастатического колоректального рака (мКРР), где способ включает введение антагониста VEGF пациенту, где пациент был отобран для лечения на основании демонстрируемого уровня VEGF-A, равного или выше 88 пг/мл, где антагонист VEGF представляет собой VEGF Тrap, содержащий один или более иммуноглобулин (Ig)-подобных доменов VEGFR1, один или более Ig-подобных доменов VEGFR2 и домен мультимеризации.

2. Способ по п.1, где уровень VEGF-A находится в диапазоне 88-1140 пг/мл.

3. Способ по п.1, где уровень VEGF-A составляет 142 пг/мл или выше.

4. Способ по п.1, где VEGF Тrap включает Ig-подобный домен 2 VEGFR1, Ig-подобный домен 3 VEGFR2 и домен мультимеризации.

5. Способ по п.4, где VEGF Тrap представляет собой зив-афлиберцепт.

6. Способ по любому из пп.1-5, дополнительно включающий введение индивидууму схемы химиотерапевтического лечения, включающей иринотекан, 5-фторурацил и лейковорин (FOLFIRI).

7. Способ по п.1, дополнительно включающий введение зив-афлиберцепта пациенту с уровнем, равным или выше 88 пг/мл.

8. Способ по п.7, дополнительно включающий введение пациенту химиотерапевтического режима, включающего иринотекан, 5-фторурацил и лейковорин (FOLFIRI).

9. Способ выявления пациента с метастатическим колоректальным раком (мКРР), который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию, где способ включает

получение образца от пациента и измерение в образце уровня VEGF-A;

где повышенный уровень экспрессии VEGF-A перед лечением антагонистом VEGF, составляющий 88 пг/мл или выше, идентифицирует пациента как пациента, который может благоприятно ответить на анти-VEGF терапию, где антагонист VEGF представляет собой VEGF Тrap, содержащий один или более иммуноглобулин (Ig)-подобных доменов VEGFR1, один или более Ig-подобных доменов VEGFR2 и домен мультимеризации.

10. Способ по п.9, где уровень VEGF-A находится в диапазоне 88-1140 пг/мл.

11. Способ по п.9, где уровень VEGF-A составляет 142 пг/мл или выше.

12. Способ по п.9, где VEGF Тrap включает Ig-подобный домен 2 VEGFR1, Ig-подобный домен 3 VEGFR2 и домен мультимеризации.

13. Способ по п.12, где VEGF Тrap представляет собой зив-афлиберцепт.

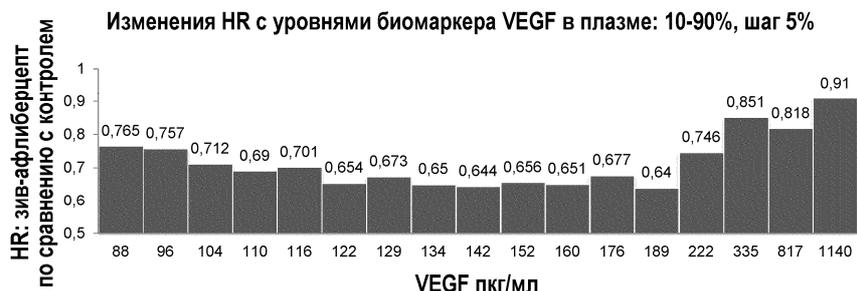
14. Способ по любому из пп.9-13, где уровень экспрессии VEGF-A измеряют при помощи ELISA.

15. Способ диагностики метастатического колоректального рака (мКРР), включающий получение образца от пациента и измерение в образце уровня VEGF-A, равного или выше 88 пг/мл, тем самым, диагностируя любого пациента с уровнем VEGF-A, равным или выше 88 пг/мл, как имеющего мКРР.

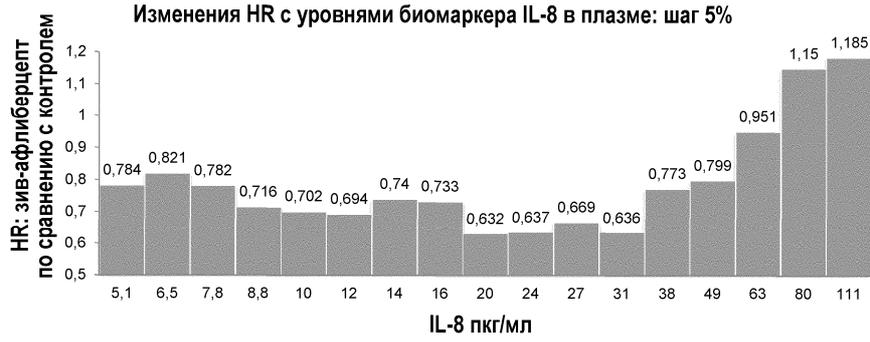
16. Способ по п.15, в котором уровень экспрессии VEGF-A измеряется с использованием ELISA.

17. Способ по п.15, где уровень VEGF-A находится в диапазоне 88-1140 пг/мл.

18. Способ по п.15, где уровень VEGF-A составляет 142 пг/мл или выше.



Фиг. 1



Фиг. 2



Подгруппы популяции по биомаркеру	события/всего	оценка Каплана-Мейера	95% доверительный интервал	значение p
высокий IL-6 (>3.86 пкг/мл)	66/94	198.000	(158, 239)	< .0001
низкий IL-6 (<3.86 пкг/мл)	30/93	593.000	(499, 593)	

Фиг. 3