

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202092158 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.12.25(22) Дата подачи заявки
2019.03.13(51) Int. Cl. A61K 31/4738 (2006.01)
A61K 31/7084 (2006.01)
A61K 31/716 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ БЕТА-ГЛЮКАНОМ И АГОНИСТОМ CD40

(31) 62/642,210

(32) 2018.03.13

(33) US

(86) PCT/US2019/022062

(87) WO 2019/178236 2019.09.19

(71) Заявитель:

ХИБЕРСЕЛЛ, ИНК.; ДЗЕ ТРАСТИЗ
ОФ ДЗЕ ЮНИВЕРСИТИ ОФ
ПЕНСИЛЬВАНИЯ (US)

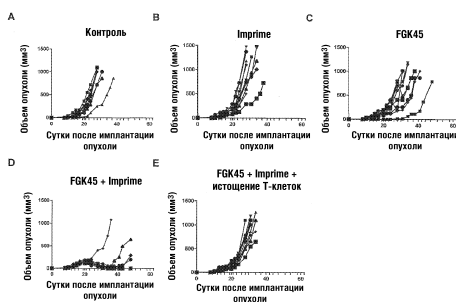
(72) Изобретатель:

Боуз Нандита, Битти Грегори (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к комбинации β -глюкана и агониста CD40 для иммунотерапии злокачественных опухолей. Для комбинированной терапии показана синергическая противоопухолевая активность, зависящая от Т-клеток. Неожиданно комбинированная терапия является эффективной против слабо иммуногенных опухолей.



Кривые роста опухолей для комбинаций лечения, включающих Imprime и FGK45. Показаны индивидуальные кривые роста опухолей для каждого животного, подвергнутого лечению с использованием (А) Контроля, (В) Imprime, (С) FGK45, (D) FGK45 + Imprime и (Е) FGK45 + Imprime с истощением Т-клеток. Кол-во (n) мышей в каждой группе составляло 10.

202092158

A1

A1

202092158

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-564899EA/085

КОМБИНИРОВАННАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ ВЕТА-ГЛЮКАНОМ И АГОНИСТОМ CD40

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет Предварительной патентной заявки США серийный No. 62/642210, поданной 13 марта 2018 г., содержание которой приведено в настоящем документе в качестве ссылки.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение, в одном аспекте, относится к композициям растворимого β -глюкана и агониста CD40, и к их применению для иммунотерапии злокачественных опухолей. Агонист CD40 может представлять собой агонистическое антитело против CD40, и растворимый β -глюкан может происходить из дрожжей.

Приведенное выше краткое содержание настоящего изобретения не предназначено для описания каждого описанного варианта осуществления или каждого воплощения настоящего изобретения. В следующем ниже описании приведены более конкретные примеры иллюстративных вариантов осуществления. В нескольких местах на протяжении заявки, руководство предоставлено посредством списка примеров, где примеры можно использовать в различных комбинациях. В каждом случае, перечисленный список служит только в качестве репрезентативной группы и не должен быть интерпретирован как исключительный список.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигуры 1A-1E. Кривые роста опухолей для комбинаций лечения, включающих растворимый β -глюкан и FGK45.

Фигуры 2A-2E. Кривые роста опухолей для комбинаций лечения, включающих растворимый β -глюкан и химиотерапию гемцитабином.

Фигуры 3A-3B. Графики, сравнивающие рост опухоли между группами лечения.

Фигура 4. График, сравнивающий общую выживаемость между группами лечения.

Фигура 5A. График, сравнивающий ответ между группами лечения.

Фигура 5B. График, сравнивающий общую выживаемость между группами лечения.

Фигуры 5C-5E. Графики, сравнивающие фармакодинамические изменения между группами лечения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАТИВНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Для лекарственных средств, разработанных для использования возможностей иммунной системы для лечения злокачественных опухолей, показаны многообещающие результаты, однако, при индивидуальном использовании, многие пациенты не отвечают на эти лекарственные средства, или ответы являются временными. Таким образом, конкретные иммунотерапевтические лекарственные средства можно комбинировать для соединения врожденной и адаптивной ветвей иммунной системы и управления улучшенной

терапией злокачественных опухолей. Конкретно, настоящее изобретение относится к композициям β -глюкана и агонистов CD40, и к их применению в иммунотерапии злокачественных опухолей.

β -глюканы представляют собой полимеры глюкозы, полученные из множества микробиологических и растительных источников, включая, например, дрожжи, бактерии, микроскопические водоросли, водоросли, грибы, овес и ячмень. Из них, дрожжевые β -глюканы интенсивно исследовали по иммуномодулирующим свойствам. Дрожжевые β -глюканы могут присутствовать в различных формах, например, таких как интактные дрожжи, зимозан, очищенные частицы цельного глюкана, солюбилизированный полисахарид зимозан или высокоочищенные растворимые β -глюканы различной молекулярной массы. Структурно, дрожжевые β -глюканы состоят из глюкозных мономеров, организованных как связанный β -(1,3)-связью глюкопиранозный остов с периодическими ответвлениями β -(1,3)-глюкопиранозы, связанными с остовом посредством β -(1,6)-гликозидных связей. Различные формы дрожжевых β -глюканов могут функционировать по-разному. На механизм, посредством которого дрожжевые β -глюканы оказывают свои иммуномодулирующие эффекты, могут влиять структурные различия между различными формами β -глюканов, например, такие как их твердочастичный или растворимый характер, третичная конформация, длина основной цепи, длина боковой цепи и частота боковых цепей. Иммуностимулирующие функции дрожжевых β -глюканов также зависят от рецепторов, привлекаемых в различных типах клеток в различных видах, которые опять же могут зависеть от структурных свойств β -глюканов.

В общем, виды иммунотерапии с использованием β -глюканов могут включать введение субъекту любой подходящей формы β -глюкана или любой комбинации двух или более форм β -глюкана. Пригодные β -глюканы и получение пригодных β -глюканов из их природных источников описаны, например, в Патенте США No. 9610303. В некоторых случаях, β -глюкан может быть получен из дрожжей, например, таких как *Saccharomyces cerevisiae*. В конкретных случаях, β -глюкан может представлять собой или быть получен из β (1,6)-[поли-(1,3)-D-глюкопиранозил]-поли- β (1,3)-D-глюкопиранозы, также обозначенной в настоящем описании как PGG (IMPRIME PGG, Biothera, Eagan, MN), высокоочищенной и хорошо охарактеризованной формы растворимого полученного из дрожжей β -глюкана. β -глюкан представляет собой PAMP (ассоциированный с патогеном молекулярный паттерн), способный запускать функцию врожденных иммунцитов, приводящую к каскаду иммунной активации и усиленному уничтожению опухолей. Известно, что дрожжевой растворимый β -глюкан усиливает прямое уничтожение клеток опухолей посредством врожденных иммунных эффекторных клеток в присутствии нацеленных на опухоли антител. Однако, дрожжевой растворимый β -глюкан также улучшает основанные на Т-клетках виды терапии злокачественных опухолей посредством двух механизмов. Конкретно, дрожжевой растворимый β -глюкан запускает реполяризацию миелоидной функции, чтобы противодействовать иммуносупрессивному микроокружению, образованному опухолью. Кроме того, дрожжевой растворимый β -глюкан активизирует

созревание антигенпредставляющих клеток (т.е., макрофагов и дендритных клеток), обеспечивающих размножение и активацию Т-клеток, так же как экспрессию IFN- γ . В отличие от других PAMP, системное введение которых часто приводит к токсическим побочным эффектам, Imprime PGG безопасно вводили посредством внутривенной инфузии более чем 400 субъектам-людям. Кроме того, виды иммунотерапии на основе β -глюкана могут включать использование, например, модифицированного и/или дериватизированного β -глюкана, такого как описанные в Международной патентной заявке No. PCT/US12/36795. В других случаях, иммунотерапия β -глюканом может включать введение, например, растворимого β -глюкана в форме твердых частиц или препарата растворимого β -глюкана в форме твердых частиц, каждый из которых описан, например, в Патенте США No. 7981447.

Исследование биомаркеров показало различия между субъектами в способности их нейтрофилов и моноцитов к связыванию дрожжевого растворимого β -глюкана. Связывание дрожжевого растворимого β -глюкана с этими клетками коррелировало с иммуномодулирующим ответом субъектов на дрожжевой растворимый β -глюкан. Кроме того, связывание дрожжевого растворимого β -глюкана с нейтрофилами и моноцитами вовлекает присутствие конкретного уровня природных антител против глюканов. Способы анализа биомаркеров для количественного измерения антител IgG и IgM против глюканов (АВА) в образцах сыворотки пациентов описаны в Публикациях Международных патентных заявок No. WO2013165591A1 и WO2015084732A1. По пороговым уровням отсечения для анализа биомаркера стратифицируют субъектов на положительные по биомаркеру и отрицательные по биомаркеру подгруппы и эти точки отсечения коррелируют со связыванием, функцией и клиническими исходами.

Если субъекта идентифицируют как отрицательного по биомаркеру, поскольку уровень АВА у субъекта падает ниже выбранного, предопределенного порогового уровня, препарат антитела, способный переводить субъекта от отрицательного по биомаркеру статуса к положительному по биомаркеру статусу, можно вводить для улучшения ответа субъекта на иммунотерапию. Таким образом, в некоторых случаях, виды комбинированной иммунотерапии β -глюканом и агонистом CD40 могут также включать введение препарата антитела для улучшения ответа субъекта на иммунотерапию. Композиции и способы для улучшения ответа субъекта на иммунотерапию описаны в Публикации Международной патентной заявки No. WO2013165593A1.

В некоторых случаях, препарат антитела может включать сыворотку от положительного по биомаркеру субъекта. В некоторых случаях, препарат антитела может включать моноклональное антитело или фрагмент антитела, специфически связывающие β -глюкан. В некоторых случаях, препарат антитела может включать внутривенный иммуноглобулин.

Молекула CD40 является членом суперсемейства рецепторов TNF и экспрессируется множеством типов клеток, включая моноциты, макрофаги, дендритные клетки, В-клетки, тромбоциты, фибробласты, эндотелиальные клетки, гладкомышечные

клетки и некоторые злокачественные эпителиальные клетки. Лиганд для CD40, лиганд CD40 (CD154), экспрессируется на множестве клеток, включая активированные CD4 Т-клетки, активированные В-клетки, CD8 Т-клетки памяти, активированные клетки естественные киллеры, гранулоциты, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки и активированные тромбоциты. Активация пути CD40 является критической стадией «лицензирования» антигенпредставляющих клеток со способностью эффективно представлять антиген и стимулировать антигенспецифические Т-клетки. Связывание CD40 на дендритных клетках (DC) усиливало экспрессию костимулирующих молекул (например, CD80 и CD86) и молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС), индуцировало высвобождение иммуностимулирующих цитокинов и активировало аппарат представления антигена. Важность CD40 для противоопухолевого иммунитета впоследствии показана в нескольких исследованиях, где введение агонистического антитела, нацеленного против CD40, приводило к защитному Т-клеточному иммунитету в моделях злокачественных опухолей на мышах. Это являлось основой для разработки агонистов CD40 клинической квалификации, проходящих в настоящее время клинические исследования.

Агонист CD40, который можно использовать по настоящему изобретению, может представлять собой рекомбинантный человеческий лиганд CD40, такой как Avrend (Immunex Corp, Seattle, WA), генотерапию лигандом CD40, например, аденовирусным вектором серотипа 5, несущим ген *CD40L* человека под контролем промотора вируса саркомы Рауса (AdCD40L) (Отдел получения векторов в Центре клеточной терапии и генотерапии, Baylor College of Medicine, Houston, TX), или агонистические антитела против CD40. Агонистические антитела против CD40 могут представлять собой поликлональные антитела, фрагменты антител или моноклональные антитела различных изотипов, например, такие как изотипы полностью человеческого IgG2, гуманизированного кроличьего IgG1, полностью человеческого IgG1, химерного IgG1 и нефукозилированного гуманизированного IgG1.

Агонистические антитела против CD40, имеющие домен Fc IgG1, могут обеспечивать преимущества в некоторых случаях, поскольку домен Fc IgG1 усиливает связывание с рецептором Fc γ II-B (Fc γ RIIB), который потенциально увеличивает активность агониста CD40 посредством перекрестного сшивания. Альтернативно, агонистические антитела против CD40 можно перекрестно сшивать химически для независимой от Fc усиленной активности. В других случаях, агонистические антитела против CD40 с доменом Fc IgG2 могут опосредовать независимую от Fc γ R агонистическую активность посредством уникальных шарнирных свойств изотипа IgG2. Альтернативно, в некоторых случаях, ни домен Fc антитела, ни перекрестное сшивание рецептора Fc, не являются необходимыми для стимуляции CD40 посредством агонистических антител против CD40. Точный механизм, лежащий в основе этих обнаружений, является неясным, но может быть объяснен связыванием конкретных областей Fab со специфическим эпитопом на CD40 человека, вызывающим сильную активность передачи сигналов.

Fc γ RIIB является единственным ингибирующим рецептором Fc, и варианты в гене,

кодирующем этот белок, или полиморфизмы, давно ассоциированы с чувствительностью к аутоиммунному заболеванию. Эти полиморфизмы могут иметь терапевтическое значение, связанное с эффективностью IgG1-модифицированных агонистов CD40, так что различные полиморфизмы FcγRIIB могут коррелировать с введением специфических антител против CD40. Например, субъектам с полиморфизмами FcγRIIB, коррелирующими с уменьшенной эффективностью IgG1-модифицированных агонистов CD40, можно вводить только IgG2-агонисты CD40 или агонистические антитела против CD40, лишенные домена Fc.

Кроме того, в моделях на мышах, увеличенная активность IgG1-агонистов CD40 ассоциирована с увеличенным риском временной тромбоцитопении. Уменьшение дозы IgG1-агониста CD40 уменьшало уровень тромбоцитопении, в то же время еще сохраняя улучшенную агонистическую активность, по сравнению с изотипом IgG2. Таким образом, в некоторых случаях, уменьшенная доза или менее частое дозирование IgG1-агониста CD40 могут являться предпочтительными для комбинированной иммунотерапии β-глюканом и агонистическим антителом против CD40.

Для клинического применения разработано несколько агонистических моноклональных антител против CD40, которые можно использовать по настоящему изобретению. Каждое антитело отличается уникальными свойствами, определяемыми (i) аффинностью связывания с CD40, (ii) изотипом, (iii) зависимостью от перекрестного сшивания для активности и (iv) способностью блокировать связывание лиганда CD40. Они включают:

(1) **CP-870893** (Pfizer и VLST) представляет собой антитело IgG2 против CD40 со слабым связыванием FcR, которое не блокирует взаимодействие лиганда CD40 с CD40; может опосредовать стимуляцию CD40 в отсутствие перекрестного сшивания; и имеет аффинность связывания (K_d) $3,48 \times 10^{-10}$ М.

(2) **APX005** (Apexigen) представляет собой антитело IgG1, узнающее CD40, которое блокирует связывание лиганда CD40; имеет усиленную активность *in vitro* при перекрестном сшивании; и имеет K_d $9,6 \times 10^{-10}$ М.

(3) **ADC-1013** (Alligator Bioscience) представляет собой антитело IgG1, узнающее CD40 с высокой аффинностью связывания (K_d 1×10^{-11} М), даже в кислых условиях (pH 5,4), с активностью, зависимой от связывания FcR и перекрестного сшивания.

(4) **Дацетузумаб (также называемый SGN-40 и ранее SGN-14)** (Seattle Genetics) представляет собой гуманизированное антитело IgG1, узнающее CD40 с K_d 1×10^{-9} М. Дацетузумаб является частичным агонистом, который имеет слабую активность стимуляции пролиферации В-клеток; имеет сильные антипролиферативные и проапоптотические свойства против линий В-клеточной лимфомы, и усиливает связывание лиганда CD40 с CD40.

(5) **SEA-CD40** (Seattle Genetics) представляет собой нефукозилированное гуманизированное антитело IgG1 против CD40, производное от дацетузумаба (SGN-40), с K_d 1×10^{-9} М. SEA-CD40 имеет улучшенную агонистическую активность из-за усиленного связывания с FcγRIIIa.

(6) **ChiLob 7/4** (University of Southampton) представляет собой химерное антитело IgG1 с K_d 2×10^{-10} M, требующее перекрестного сшивания для стимуляции CD40 на антигенпредставляющих клетках.

Плохая способность отвечать на иммунотерапию, наблюдаемая у многих пациентов, может быть обусловлена отсутствием существующего постоянного иммунного ответа против злокачественной опухоли, который является необходимым, чтобы иммунотерапия являлась успешной. Таким образом, настоящее изобретение относится к новым способам, таким как использование иммунных агонистов, способных вызывать сильный противоопухолевый иммунитет для расширения и усиления терапевтического воздействия иммунотерапии злокачественных опухолей.

Опубликовано, что эффективность агонистов CD40 зависит от присутствия антигена опухоли, который необходим активированным CD40 антигенпредставляющим клеткам для индукции антигенспецифического Т-клеточного иммунитета. Последующие исследования были затем сфокусированы на комбинации агонистов CD40 с вакцинами и химиотерапевтическими средствами для вызова иммуногенной формы гибели клеток опухоли. Однако, даже в комбинации с химиотерапией, доказательств зависимой от Т-клеток противоопухолевой активности не наблюдали, и в дальнейших исследованиях идентифицировали иммуносупрессивные макрофаги в микроокружении опухоли. Эти макрофаги, в дополнение к другим иммуносупрессивным механизмам, вероятно, объясняют отсутствие зависимой от Т-клеток противоопухолевой активности.

Растворимый β -глюкан связывается с CD11b на клетках миелоидного происхождения, а именно, нейтрофилах и моноцитах, и усиливает иммуностимулирующие функции нейтрофилов N1 и макрофагов M1, и ослабляет иммуносупрессивные функции супрессорных клеток миелоидного происхождения, нейтрофилов N2 и макрофагов M2. Эта модуляция приводит к перекрестной регуляции между различными врожденными и адаптивными клетками в микроокружении опухоли, которая перенаправляет условия в сторону иммуностимуляции. Растворимый β -глюкан непосредственно влияет на реполяризацию M2 до фенотипа M1 и управляет поляризацией Th1, и примированные растворимым β -глюканом-врожденные иммунциты образуют цитокины для опосредованного влияния на пролиферацию CD4 и CD8 Т-клеток, даже в присутствии регуляторных Т-клеток, и в конечном счете, управляют поляризацией Th1.

С этой точки зрения, растворимые β -глюканы можно комбинировать с агонистами CD40. Например, растворимый β -глюкан можно комбинировать с агонистическими антителами против CD40 в лечении злокачественных опухолей, включая, например, меланому, рак поджелудочной железы, множественную миелому, неходжскинскую лимфому, хронический лимфоцитарный лейкоз, мезотелиому, солидные опухоли на поздних стадиях и т.д. Растворимый β -глюкан запускает реполяризацию миелоидной функции, чтобы противодействовать иммуносупрессивному микроокружению, образованному опухолью, и активирует созревание антигенпредставляющих клеток, приводя к размножению и активации Т-клеток, и к экспрессии IFN- γ . Эти условия являются

идеальными для агонистов CD40 для индукции зависимого от Т-клеток противоопухолевого иммунитета. Комбинация агониста CD40 и растворимого β -глюкана приводит к синергическому эффекту, который сильно улучшает терапевтические исходы даже против слабо иммуногенных опухолей.

Настоящее изобретение относится, частично, к совместному введению β -глюкана с агонистом CD40. В рамках изобретения, «совместно вводимые» относится к двум или более компонентам комбинации, вводимым таким образом, что терапевтические или профилактические эффекты комбинации могут превышать терапевтические или профилактические эффекты каждого компонента, вводимого отдельно. Два компонента можно совместно вводить одновременно или последовательно. Одновременно совместно вводимые компоненты можно предоставлять в одной или нескольких фармацевтических композициях. Последовательное совместное введение двух или более компонентов является независимым от расписания и включает случаи, в которых компоненты вводят таким образом, чтобы оба компонента оказались одновременно биодоступными после того, как они оба были введены. Независимо от того, является ли совместное введение компонентов одновременным или последовательным, компоненты можно совместно вводить в одну область или в различные области.

β -глюкан, агонист CD40, и/или комбинацию обоих компонентов можно составлять в композицию вместе с «носителем». В рамках изобретения, «носитель» включает любой растворитель, диспергирующую среду, связующее, покрытие, разбавитель, антибактериальное и/или противогрибковое средство, изотоническое средство, замедляющее абсорбцию средство, буфер, раствор-носитель, суспензию, коллоид и т.п. Использование таких сред и/или средств для фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области. За исключением случаев, когда любые общепринятые среды или средства являются несовместимыми с β -глюканом или агонистом CD40, предусматривают их использование в терапевтических композициях. Дополнительные активные ингредиенты также можно включать в композицию.

Под «фармацевтически приемлемым» понимают материал, который не является нежелательным с биологической или иной точки зрения, т.е., материал может быть введен индивидууму вместе с β -глюканом и/или лекарственным средством, без вызова каких-либо нежелательных биологических эффектов или без вредного взаимодействия с любым из других компонентов фармацевтической композиции, в которой он содержится.

β -глюкан, агонист CD40 и/или комбинацию обоих компонентов можно составлять в фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления, β -глюкан и агонист CD40 можно предоставлять в одном составе. В других вариантах осуществления, β -глюкан и агонист CD40 можно предоставлять в отдельных составах. Фармацевтическую композицию можно составлять в различных и/или многих формах, адаптированных к одному или нескольким предпочтительным способам введения. Таким образом, фармацевтическую композицию можно вводить одним или несколькими известными способами, включая, например, пероральный, парентеральный (например, внутрикожный,

чрескожный, подкожный, внутримышечный, внутривенный, внутрибрюшинный, внутриопухолевый и т.д.), или местный (например, интраназальный, внутрилегочный, интрамаммарный, интравагинальный, внутриматочный, внутрикожный, чрескожный, ректальный и т.д.). Фармацевтическую композицию или ее часть можно вводить на поверхность слизистой оболочки, например, посредством введения, например, на слизистую оболочку носа или дыхательных путей (например, посредством спрея или аэрозоля). Фармацевтическую композицию или ее часть можно также вводить посредством замедленного или отсроченного высвобождения.

Состав можно удобным образом представлять в единичной дозированной форме и можно получать способами, хорошо известными в области фармацевтики. Способы получения композиции с фармацевтически приемлемым носителем включают стадию объединения β -глюкана и/или агониста CD40 с носителем, содержащим один или несколько вспомогательных ингредиентов. В общем, состав можно получать посредством равномерного и/или непосредственного объединения активного соединения с жидким носителем, тонко измельченным твердым носителем, или ими обоими, и затем, при необходимости, формования продукта в желательные составы.

β -глюкан, агонист CD40, и/или комбинацию обоих компонентов можно предоставлять в любой подходящей форме, включая, но без ограничения, раствор, суспензию, эмульсию, спрей, аэрозоль или любую форму смеси. Композицию можно доставлять в составе с любым фармацевтически приемлемым наполнителем, носителем или связующим. Например, состав можно доставлять в общепринятой местной лекарственной форме, например, такой как крем, мазь, аэрозольный состав, неаэрозольный спрей, гель, лосьон и т.п. Состав может также включать одну или несколько добавок, включая, например, такие как адъювант, усиливающее проникновение через кожу средство, краситель, ароматизатор, вкусоароматическое средство, увлажнитель, загуститель и т.п.

В некоторых вариантах осуществления, изобретение может включать введение достаточного количества β -глюкана для обеспечения дозы, например, от приблизительно 100 нг/кг до приблизительно 50 мг/кг, субъекту, хотя, в некоторых вариантах осуществления, β -глюкан можно вводить в дозе за пределами этого диапазона. Доза может зависеть от уровней АВА субъекта. В некоторых вариантах осуществления, диапазон дозирования β -глюкана составляет от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 6 мг/кг, включая 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,5 мг/кг, 3,0 мг/кг, 3,5 мг/кг, 4,0 мг/кг, 4,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,5 мг/кг и 6,0 мг/кг. β -глюкан можно дозировать только один раз, или временные интервалы между дозированием могут составлять, например, каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель в ходе лечения, или каждые 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 или 84 суток. Расписание дозирования можно менять, в зависимости, среди прочего, от злокачественной опухоли, подвергаемой лечению, и уровня АВА у субъекта. Дозирование растворимого β -глюкана описано в

Международной патентной заявке No. PCT/US18/19412.

Альтернативно, дозу можно рассчитывать с использованием фактической массы тела, полученной непосредственно перед началом курса лечения. Для доз, рассчитанных таким образом, площадь поверхности тела (m^2) рассчитывают перед началом курса лечения с использованием способа Дюбуа: $m^2 = (\text{масса в кг}^{0,425} \times \text{рост в см}^{0,725}) \times 0,007184$. В некоторых вариантах осуществления, таким образом, способ может включать введение достаточного количества β -глюкана для обеспечения дозы, например, от приблизительно 0,01 мг/ m^2 до приблизительно 10 мг/ m^2 .

Изобретение включает введение достаточного количества агониста CD40. Доза агониста CD40 может составлять от 0,01 мг/кг до 20 мг/кг, включая 0,01 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,2 мг/кг, 0,3 мг/кг, 0,4 мг/кг, 0,5 мг/кг, 0,6 мг/кг, 0,7 мг/кг, 0,8 мг/кг, 0,9 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,5 мг/кг, 3,0 мг/кг, 3,5 мг/кг, 4,0 мг/кг, 4,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,5 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,5 мг/кг, 7,0 мг/кг, 7,5 мг/кг, 8,0 мг/кг, 8,5 мг/кг, 9,0 мг/кг, 9,5 мг/кг, 10,0 мг/кг, 10,5 мг/кг, 11,0 мг/кг, 11,5 мг/кг, 12,0 мг/кг, 12,5 мг/кг, 13,0 мг/кг, 13,5 мг/кг, 14,0 мг/кг, 14,5 мг/кг, 15,0 мг/кг, 15,5 мг/кг, 16,0 мг/кг, 16,5 мг/кг, 17,0 мг/кг, 17,5 мг/кг, 18,0 мг/кг, 18,5 мг/кг, 19,0 мг/кг, 19,5 мг/кг и 20,0 мг/кг. Агонист CD40 можно дозировать только один раз, или временные интервалы между дозированием могут составлять, например, каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель в ходе лечения, или каждые 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 или 84 суток.

Альтернативно, дозу либо β -глюкана, либо агониста CD40 можно рассчитывать с использованием фактической массы тела, полученной непосредственно перед началом курса лечения. Для доз, рассчитанных таким образом, площадь поверхности тела (m^2) рассчитывают перед началом курса лечения с использованием способа Дюбуа: $m^2 = (\text{масса в кг}^{0,425} \times \text{рост в см}^{0,725}) \times 0,007184$. В некоторых вариантах осуществления, таким образом, способ может включать введение достаточного количества β -глюкана и/или агониста CD40 для обеспечения дозы, например, от приблизительно 0,01 мг/ m^2 до приблизительно 10 мг/ m^2 .

Настоящее изобретение проиллюстрировано посредством следующих примеров. Следует понимать, что конкретные примеры, материалы, количества и способы следует интерпретировать в широком смысле, в соответствии с объемом и содержанием настоящего изобретения, как указано в настоящем описании.

Пример 1

Растворимый β -глюкан в комбинации с агонистом CD40 усиливает регрессию опухолей:

Оценивали роль растворимого β -глюкана в индукции сильного противоопухолевого иммунитета против аденокарциномы протоков поджелудочной железы (PDAC), слабо иммуногенной злокачественной опухоли, характеризующейся исключением Т-клеток и сильной воспалительной иммунной реакцией. В этом исследовании, мышам C57BL/6 имплантировали подкожно происходящую из KPC линию клеток PDAC (7940B, P9).

Мышей мониторовали 2-3 раза в неделю по росту опухоли посредством штангенциркуля. На сутки -2, мышам вводили гемцитабин (120 мг/кг) или PBS. На сутки 0, мышей подвергали лечению в присутствии или в отсутствие FGK45 (0,1 мг), IMPRIME PGG (1,2 мг) или обоих. FGK45 представляет собой крысиное моноклональное агонистическое антитело против CD40 мыши, и его вводили посредством внутрибрюшинной инъекции. IMPRIME PGG вводили посредством внутривенной инъекции.

Мышей отслеживали по росту опухоли и общей выживаемости (т.е. пока опухоли не достигали $>1000 \text{ мм}^3$, или пока для животных не показывали связанный с опухолью дискомфорт/дистресс). Влияние лечения только IMPRIME PGG на рост опухоли, по сравнению с контролем, показано на фигурах 1A и 1B. В этом случае, лечение однократной дозой IMPRIME PGG вызывало задержку прорастания опухоли у 1 из 10 мышей. В предшествующем эксперименте, IMPRIME PGG вызывал задержку прорастания опухоли у 3 из 9 мышей (данные не представлены). Эти эксперименты показывают, что IMPRIME PGG имеет ограниченную активность в качестве монотерапии в этой модели опухоли. Сходные результаты, показанные на фигуре 1C, наблюдали при лечении только FGK45, где задержку роста опухоли наблюдали у 4 из 10 мышей. В предшествующем эксперименте показан рост опухоли у 5 из 9 мышей (данные не представлены).

В отличие от этого, комбинация IMPRIME PGG и FGK45 приводила к регрессии опухоли у 9 из 10 мышей (фигура 1D). Полную регрессию опухолей наблюдали у 6 из 10 мышей без последующего рецидива.

Пример 2

Растворимый β -глюкан в комбинации с агонистическим антителом против CD40 вызывает зависимую от Т-клеток противоопухолевую активность против слабо иммуногенной опухоли: На сутки -3, 0, 4, 7 и 11, мышей из примера 1 подвергали лечению в присутствии или в отсутствие истощающих антител GK1.5 (против CD4) и 2.43 (против CD8) (0,2 мг/дозу). 2.43 и GK1.5 представляют собой крысиные моноклональные антитела против белков мыши, которые истощают экспрессирующие CD8 α и CD4 Т-клетки, соответственно. Оба антитела вводили посредством внутрибрюшинной инъекции.

Как показано на фигуре 1E, синергическая терапевтическая активность при использовании комбинации IMPRIME PGG и FGK45 прекращалась, когда истощали CD4 и CD8 Т-клетки. Таким образом, эти данные показывают, что комбинирование IMPRIME PGG и FGK45 приводит к заметной зависимой от Т-клеток противоопухолевой активности в слабо иммуногенной модели мышинной аденокарциномы протоков поджелудочной железы.

Пример 3

Растворимый β -глюкан в комбинации с химиотерапией усиливает регрессию опухоли:

Мышам C57BL/6 имплантировали подкожно происходящую из КРС линию клеток PDAC (7940B, P9). Мышей мониторовали 2-3 раза в неделю по росту опухоли посредством штангенциркуля. На сутки -2, мышам вводили гемцитабин (120 мг/кг) или

PBS.

Снова, только для IMPRIME PGG показана минимальная активность (фигура 2А, В). Сходным образом, как показано на фигуре 2С, химиотерапия гемцитабином не оказывала значимого влияния на рост опухоли. В отличие от этого, лечение с использованием химиотерапии гемцитабином, введенным за 48 часов до IMPRIME PGG, приводило к значимой противоопухолевой активности с задержкой прорастания опухоли, наблюдаемой у 5 из 10 мышей (фигура 2D). В предшествующем эксперименте, это комбинированное лечение приводило к противоопухолевой активности у 6 из 9 мышей.

Пример 4

Растворимый β -глюкан в комбинации с химиотерапией вызывает зависимость от Т-клеток противоопухолевую активность против слабо иммуногенной опухоли: На сутки -3, 0, 4, 7 и 11, мышей из примера 3 подвергали лечению в присутствии или в отсутствие истощающих антител GK1.5 (против CD4) и 2.43 (против CD8) (0,2 мг/дозу). Синергический терапевтический эффект с использованием комбинации IMPRIME PGG и гемцитабина является зависимым от CD4 и CD8 Т-клеток, как наблюдали, когда Т-клетки истощали до лечения (фигура 2Е). Таким образом, комбинированная химиотерапия с использованием IMPRIME PGG может приводить к значительной зависимости от Т-клеток противоопухолевой активности в слабо иммуногенной модели мышинной аденокарциномы протоков поджелудочной железы.

На фигурах 3А и 3В показаны кривые среднего роста опухоли для каждой из групп лечения гемцитабином и FGK45, соответственно. Статистическую значимость для сравнений роста опухоли на сутки 26 определяли с использованием двухфакторного Anova с критерием Тьюки для множественных сравнений. Статистика сравнений между группами лечения показана в таблице 1.

Таблица 1

Сравниваемое лечение	Значение <i>p</i>
Контроль по сравнению с IMPRIME	0,9944
Контроль по сравнению с FGK45	<0,0001
Контроль по сравнению с гемцитабином	0,9750
Контроль по сравнению с FGK45+IMPRIME	<0,0001
Контроль по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	<0,0001
IMPRIME по сравнению с FGK45	<0,0001
IMPRIME по сравнению с гемцитабином	>0,9999
IMPRIME по сравнению с FGK45+IMPRIME	<0,0001
IMPRIME по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	<0,0001
FGK45 по сравнению с гемцитабином	0,0001
FGK45 по сравнению с FGK45+IMPRIME	0,0008
FGK45 по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	0,7767

Гемцитабин по сравнению с FGK45+IMPRIME	<0,0001
Гемцитабин по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	<0,0001
FGK45+IMPRIME по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	0,0601

На фигуре 4 показан вклад каждого лечения в общую выживаемость. Статистика сравнений выживаемости между группами лечения показана в таблице 2. Статистическую значимость определяли с использованием лог-рангового критерия.

Таблица 2

Сравниваемое лечение	Значение <i>p</i>
Контроль по сравнению с IMPRIME	0,2794
Контроль по сравнению с FGK45	0,0024
Контроль по сравнению с гемцитабином	0,7345
Контроль по сравнению с FGK45+IMPRIME	<0,0001
Контроль по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	0,0002
IMPRIME по сравнению с FGK45	0,0291
IMPRIME по сравнению с гемцитабином	0,3989
IMPRIME по сравнению с FGK45+IMPRIME	<0,0001
IMPRIME по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	0,0029
FGK45 по сравнению с гемцитабином	0,0074
FGK45 по сравнению с FGK45+IMPRIME	<0,0001
FGK45 по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	0,0284
Гемцитабин по сравнению с FGK45+IMPRIME	<0,0001
Гемцитабин по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	0,0012
FGK45+IMPRIME по сравнению с гемцитабином+IMPRIME	0,0048
FGK45+IMPRIME по сравнению с FGK45+IMPRIME+истощение Т-клеток	<0,0001
Гемцитабин+IMPRIME по сравнению с гемцитабином+IMPRIME+истощение Т-клеток	0,0036

Статистически значимые различия наблюдали между следующими группами лечения: (i) контроль по сравнению с гемцитабином+IMPRIME ($p=0,0002$), (ii) гемцитабин по сравнению с гемцитабином+IMPRIME ($p=0,0012$), (iii) IMPRIME по сравнению с гемцитабином+IMPRIME ($p=0,0029$), (iv) контроль по сравнению с FGK45+IMPRIME ($p < 0,0001$), (v) FGK45 по сравнению с FGK45+IMPRIME ($p < 0,0001$), (vi) IMPRIME по сравнению с FGK45+IMPRIME ($p < 0,0001$) и (vii) гемцитабин+IMPRIME по сравнению с FGK45+IMPRIME ($p=0,0048$). Совместно, эти данные показывают заметную терапевтическую активность, когда либо гемцитабин, либо FGK45 комбинируют с IMPRIME PGG, и то, что терапевтическая активность обеих комбинаций лечения зависит

от Т-клеток. В общем, большую частоту ответов (90% по сравнению с 50%) и улучшенную общую выживаемость (60% по сравнению с 0%) наблюдали, когда IMPRIME PGG комбинировали с FGK45, по сравнению с химиотерапией, соответственно.

Комбинация растворимого β -глюкана с агонистом CD40 является более эффективной, чем любое лечение отдельно, и приводит к полной и длительной регрессии опухолей у 60% мышей. Кроме того, противоопухолевый эффект растворимого β -глюкана плюс агонист CD40 является зависимым от CD4 и CD 8 Т-клеток.

Пример 5

Фагоцитирующие миелоидные клетки являются необходимыми для длительности противоопухолевого ответа на растворимый β -глюкан в комбинации с агонистическим антителом против CD40: Роль отдельных подгрупп миелоидных клеток для противоопухолевой активности, индуцированной с использованием IMPRIME PGG и агониста CD40. Нацеленные на миелоидные клетки соединения вводили для истощения внеопухолевых макрофагов (т.е. липосомальный клодронат), для истощения Ly6C⁺ моноцитов периферической крови (т.е. антитела против Ly6C), для истощения опухолиассоциированных макрофагов/внеопухолевых макрофагов (т.е. ингибитор рецептора колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R)) и для блокирования CD70, экспрессированного антигенпредставляющими клетками, включая макрофаги и дендритные клетки (антитела против CD70).

Мышам C57BL/6 (n=10/группу) имплантировали подкожно происходящую из KPC линию клеток PDAC. Мышей монитировали 2-3 раза в неделю по росту опухоли посредством штангенциркуля. Когда опухоли достигали приблизительно 4-5 мм в диаметре, мышей подвергали следующему лечению:

Группа 1: Контроль

Группа 2: FGK45+IMPRIME PGG

Группа 3: FGK45+IMPRIME PGG+липосомальный клодронат (*Gastroenterology*. 2015 Jul; 149(1): 201-210.)

Группа 4: FGK45+IMPRIME PGG+антитело против Ly6C (*Cancer Discov*. 2016 Apr; 6(4): 400-413.)

Группа 5: FGK45+IMPRIME PGG+ингибитор CSF1R

Группа 6: FGK45+IMPRIME PGG+блокирующее антитело против CD70 (*Nat Commun*. 2012 Jul 10;3:948.)

Соединения вводили с использованием следующей схемы дозирования:

1. FGK45 вводили на сутки 0 при 0,1 мг посредством внутрибрюшинной (i.p.) инъекции
2. IMPRIME PGG вводили на сутки 0 при 1,2 мг внутривенно (i.v.).
3. Инкапсулированный в липосомах клодронат вводили i.p. при 10 мг/кг на сутки -2, 2, 5 и 9.
4. Антитела против Ly6C (Monts1) вводили i.p. при 0,5 мг/дозу на сутки -1, 0, 1, 5, 9.
5. Ингибитор CSF1R (GW2580) вводили ежедневно посредством желудочного

зонда при 160 мг/кг на сутки -2-2 и на сутки 5-9.

6. Антитела против CD70 (клон FR70) вводили i.p. при 0,25 мг/дозу на сутки -1, 0, 1, 5.

На фигурах 5 А и 5В показаны данные ответа на лечение и выживаемости для каждой группы. Данные показывают, что фагоцитирующие миелоидные клетки являются необходимыми для длительности ответа, поскольку истощение макрофагов посредством инкапсулированного в липосомах клодроната ингибировало комбинированную терапию.

Кроме того, периферическую кровь собирали от каждой мыши посредством отбора из хвостовой вены на сутки -2, 0 и 1 лечения, и анализировали посредством проточной цитометрии по присутствию CD19⁺ В-клеток, CD3⁺ Т-клеток и CD3⁺ CD8β⁺ Т-клеток. Результаты показаны на фигурах 5С, 5D и 5Е, и показывают, что эти типы клеток покидают циркуляцию в периферической крови.

Синергический эффект, который наблюдали с использованием комбинированной терапии агонистом CD40/растворимым β-глюканом, является неожиданным и примечательным по меньшей мере по трем причинам. Во-первых, химиотерапия не является необходимой. Как обсуждали выше, опубликовано, что эффективность агонистов CD40 является зависимой от присутствия антигена опухоли, который необходим активированным CD40 антигенпредставляющим клеткам для индукции антигенспецифического Т-клеточного иммунитета. Пример 2 показывает, что комбинированная терапия имеет заметную активность против слабо иммуногенной опухоли без химиотерапии. Пример 5 показывает необходимость фагоцитирующих миелоидных клеток, что позволяет предполагать, что растворимый β-глюкан изменяет фагоцитирующую емкость инфильтрующей опухоль миелоидных клеток и таким образом, улучшает захват ими антигенов опухоли. Во-вторых, активность, наблюдаемая для комбинированной терапии агонистом CD40/растворимым β-глюканом, не только является значительной без химиотерапии, но и превышает активность, наблюдаемую с использованием химиотерапии, за которой следует агонист CD40. В-третьих, является неожиданным и примечательным, что комбинация двух нацеленных на миелоидные клетки средств, агониста CD40 и растворимого β-глюкана, приводила к синергической активности. Пример 1 показывает, что для монотерапии любым средством показана ограниченная активность, но для комбинированной терапии агонистом CD40/растворимым β-глюканом показана значительная, более чем аддитивная, активность.

Полное содержание всех патентов, патентных заявок и публикаций, и доступного в электронной форме материала (включая, например, нуклеотидные последовательности, принятые, например, в GenBank и RefSeq, и аминокислотные последовательности, принятые, например, в SwissProt, PIR, PRF, PDB, и трансляции аннотированных кодирующих областей в GenBank и RefSeq), процитированных в настоящем описании, приведено в качестве ссылки. В случае любого несоответствия между описанием настоящей заявки и описанием(описаниями) любого документа, содержание которого приведено в настоящем документе в качестве ссылки, описание настоящей заявки имеет

преимущество. Предшествующее подробное описание и примеры приведены только для ясности понимания. Они не предполагают никаких излишних ограничений. Настоящее изобретение не ограничено конкретными показанными и описанными деталями, варианты, очевидные для специалиста в данной области, включены в настоящее изобретение, определенное формулой изобретения.

Если не указано иное, все числа, выражающие количества компонентов, молекулярные массы, и т.д., используемые в описании и формуле изобретения, следует понимать как модифицированные во всех случаях термином «приблизительно». Соответственно, если не указано иное, числовые параметры, указанные в описании и формуле изобретения, представляют собой приближения, которые могут меняться в зависимости от желательных свойств, которые должны быть получены посредством настоящего изобретения. По меньшей мере, и не пытаясь ограничить принцип эквивалентов объемом формулы изобретения, каждый числовой параметр следует рассматривать по меньшей мере в свете количества приведенных значащих цифр и с использованием общепринятых способов округления.

Несмотря на то, что числовые диапазоны и параметры, устанавливающие широкий объем изобретения, представляют собой приближения, числовые значения, приведенные в конкретных примерах, указаны настолько точно, насколько это возможно. Все числовые значения, однако, изначально содержат диапазон, неизбежно возникающий из стандартного отклонения, обнаруженного при их соответствующих тестирующих измерениях.

Все заголовки приведены для удобства читателя и не должны быть использованы для ограничения смыслового содержания текста, следующего за заголовком, если это специально не указано.

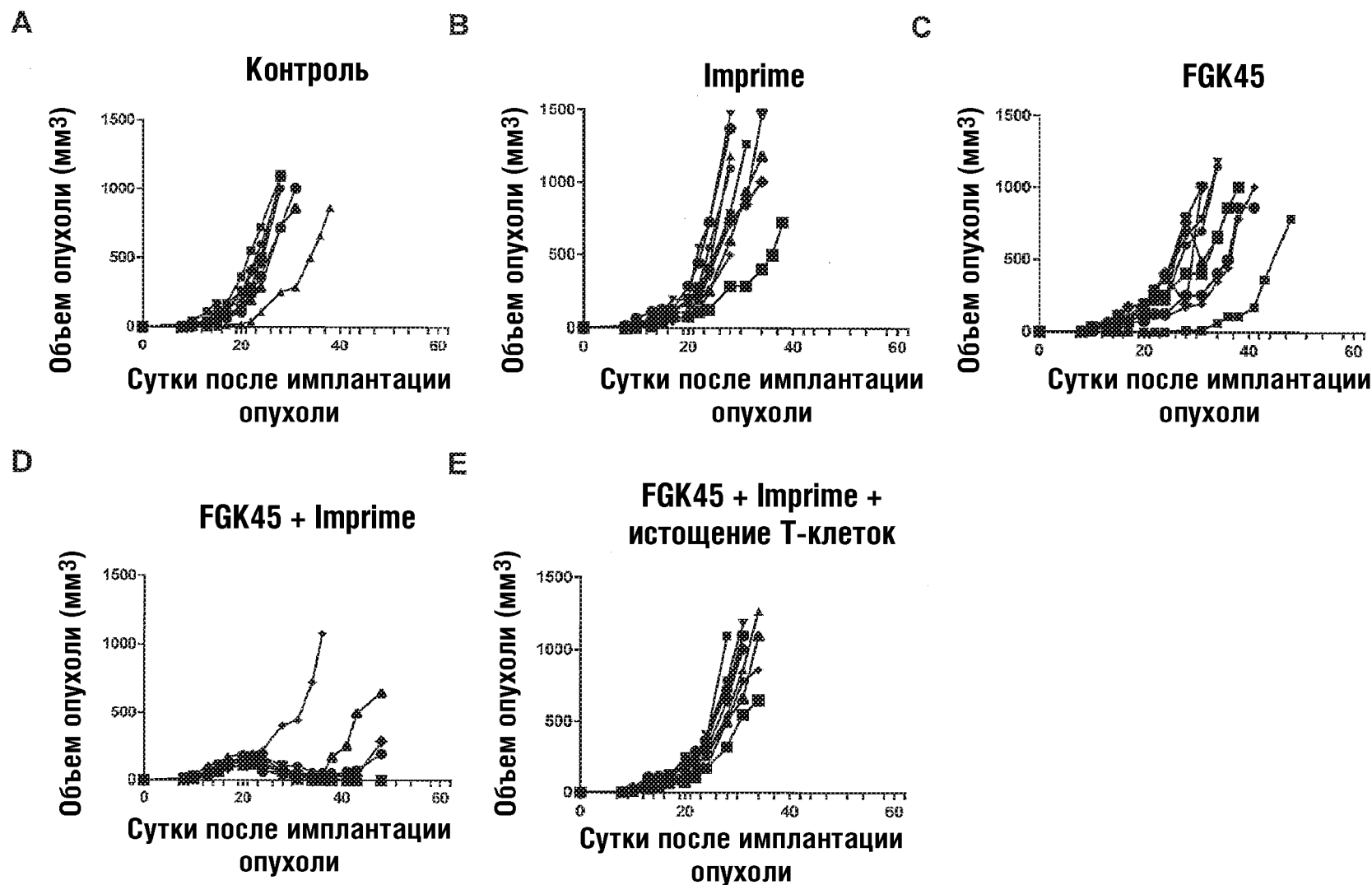
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения субъекта, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение растворимого β -глюкана и агониста CD40.
2. Способ по п.1, где злокачественная опухоль представляет собой слабо иммуногенную злокачественную опухоль.
3. Способ по п.1, где злокачественная опухоль представляет собой меланому, рак поджелудочной железы, множественную миелому, неходжкинскую лимфому, хронический лимфоцитарный лейкоз, мезотелиому или солидные опухоли на поздних стадиях.
4. Способ по п.1, где растворимый β -глюкан и агонист CD40 находятся в одном составе.
5. Способ по п.1, где растворимый β -глюкан и агонист CD40 находятся в отдельных составах.
6. Способ по п.1, где растворимый β -глюкан происходят из дрожжей.
7. Способ по п.6, где дрожжи представляют собой *Saccharomyces cerevisiae*.
8. Способ по п.1, где растворимый β -глюкан представляет собой $\beta(1,6)$ -[поли-(1,3)-D-глюкопиранозил]-поли- $\beta(1,3)$ -D-глюкопиранозу.
9. Способ по п.1, где агонист CD40 представляет собой агонистическое антитело против CD40.
10. Способ по п.9, где агонистическое антитело против CD40 представляет собой не активирующее комплемент антитело.
11. Способ по п.9, где агонистическое антитело против CD40 представляет собой антитело IgG1 или IgG2.
12. Способ по п.9, где агонистическое антитело против CD40 представляет собой CP-870893, APX005, ADC-1013, дацетузумаб, SEA-CD40 или ChiLob 7/4.
13. Способ по п.1, где способ дополнительно включает введение компонента антитела против β -глюкана.
14. Способ стимуляции иммунной системы субъекта против клеток злокачественных опухолей, включающий введение растворимого β -глюкана и агонистического антитела против CD40.
15. Способ по п.14, где введение растворимого β -глюкана и агонистического антитела против CD40 приводит к синергическому эффекту.
16. Способ по п.15, где клетки злокачественных опухолей являются слабо иммуногенными.
17. Композиция для иммунотерапии злокачественных опухолей, содержащая:
растворимый β -глюкан; и
агонистическое антитело против CD40.
18. Композиция по п.17, где растворимый β -глюкан представляет собой $\beta(1,6)$ -[поли-(1,3)-D-глюкопиранозил]-поли- $\beta(1,3)$ -D-глюкопиранозу.
19. Композиция по п.17, где агонистическое антитело против CD40 представляет

собой антитело IgG1 или IgG2.

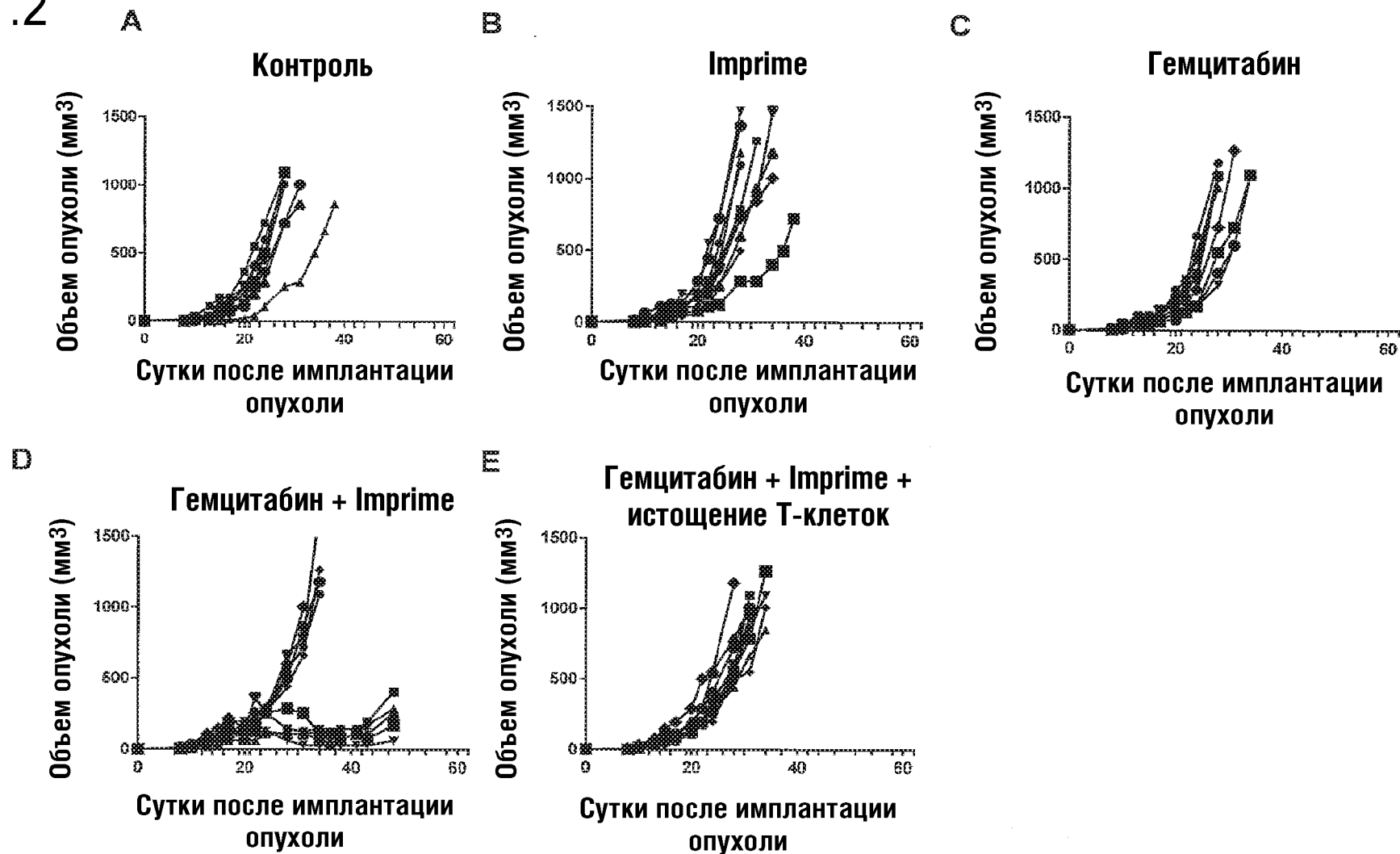
20. Композиция по п.17, где растворимый β -глюкан и агонистическое антитело против CD40 оказывают синергический эффект против слабо иммуногенных злокачественных опухолей.

ФИГ.1



Фигура 1. Кривые роста опухолей для комбинаций лечения, включающих Imprime и FGK45. Показаны индивидуальные кривые роста опухолей для каждого животного, подвергнутого лечению с использованием (А) Контроля, (В) Imprime, (С) FGK45, (Д) FGK45 + Imprime и (Е) FGK45 + Imprime с истощением Т-клеток. Кол-во (n) мышей в каждой группе составляло 10.

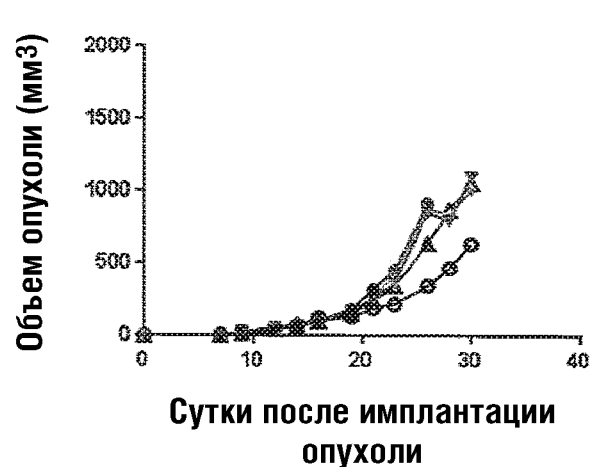
ФИГ.2



Фигура 2. Кривые роста опухолей для комбинаций лечения, включающих Imprime и химиотерапию гемцитабином. Показаны индивидуальные кривые роста опухолей для каждого животного, подвергнутого лечению с использованием (А) Контроля, (В) Imprime, (С) Гемцитабина, (D) Гемцитабина + Imprime и (Е) FGK45 + Imprime с истощением Т-клеток. Кол-во (n) мышей в каждой группе составляло 10.

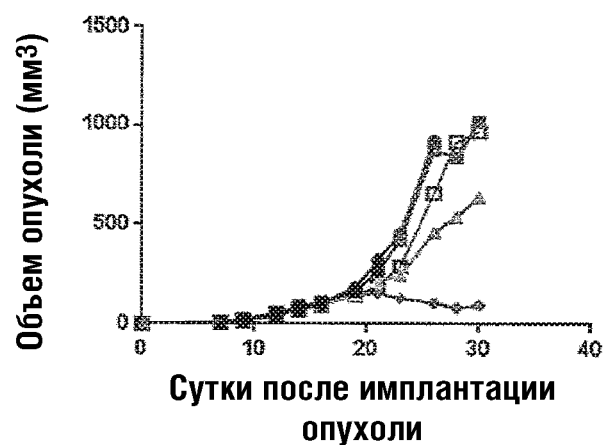
ФИГ.3

А



- Контроль
- *— Гемцитабин
- +— Imprime
- Гемцитабин + Imprime
- △— Гемцитабин + Imprime + истощение Т-клеток

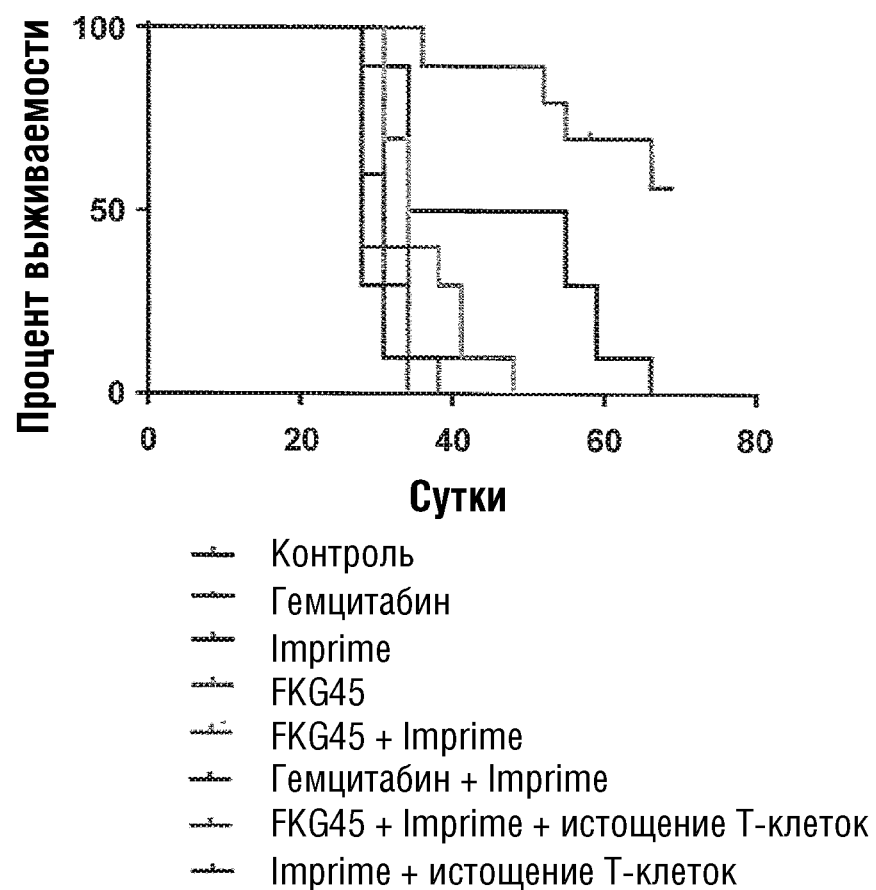
Б



- Контроль
- Imprime
- *— FGK45
- +— FGK45 + Imprime
- FGK45 + Imprime + истощение Т-клеток

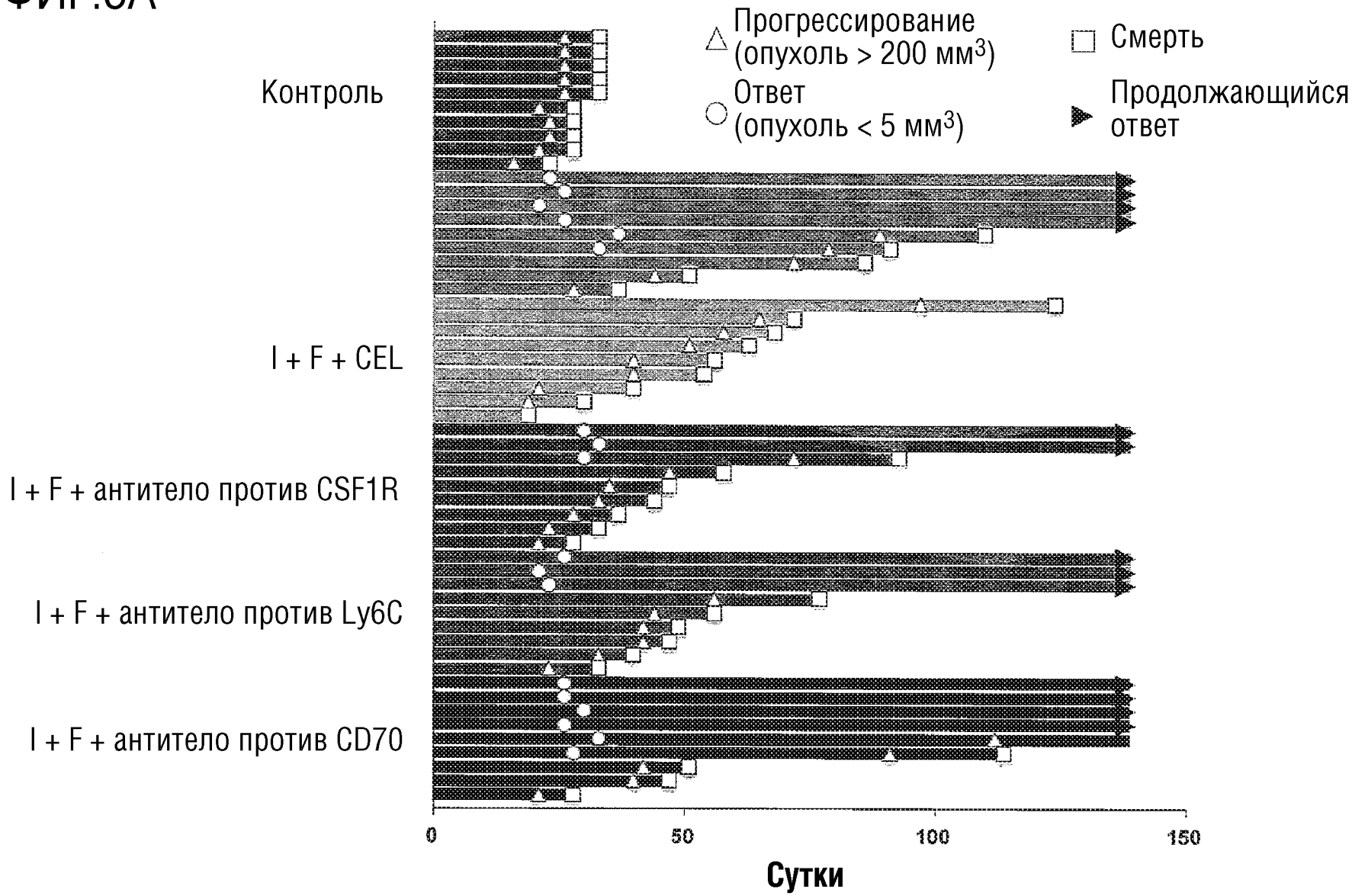
Фигура 3. Сравнение роста опухоли между группами лечения. Показаны средние объемы опухолей с течением времени у мышей, подвергнутых лечению с использованием (А) Контроля, гемцитабина, Imprime, гемцитабина + Imprime и гемцитабина + Imprime с истощением Т-клеток, и (Б) Контроля, Imprime, FGK45, FGK45 + Imprime и FGK45 + Imprime с истощением Т-клеток.

ФИГ.4

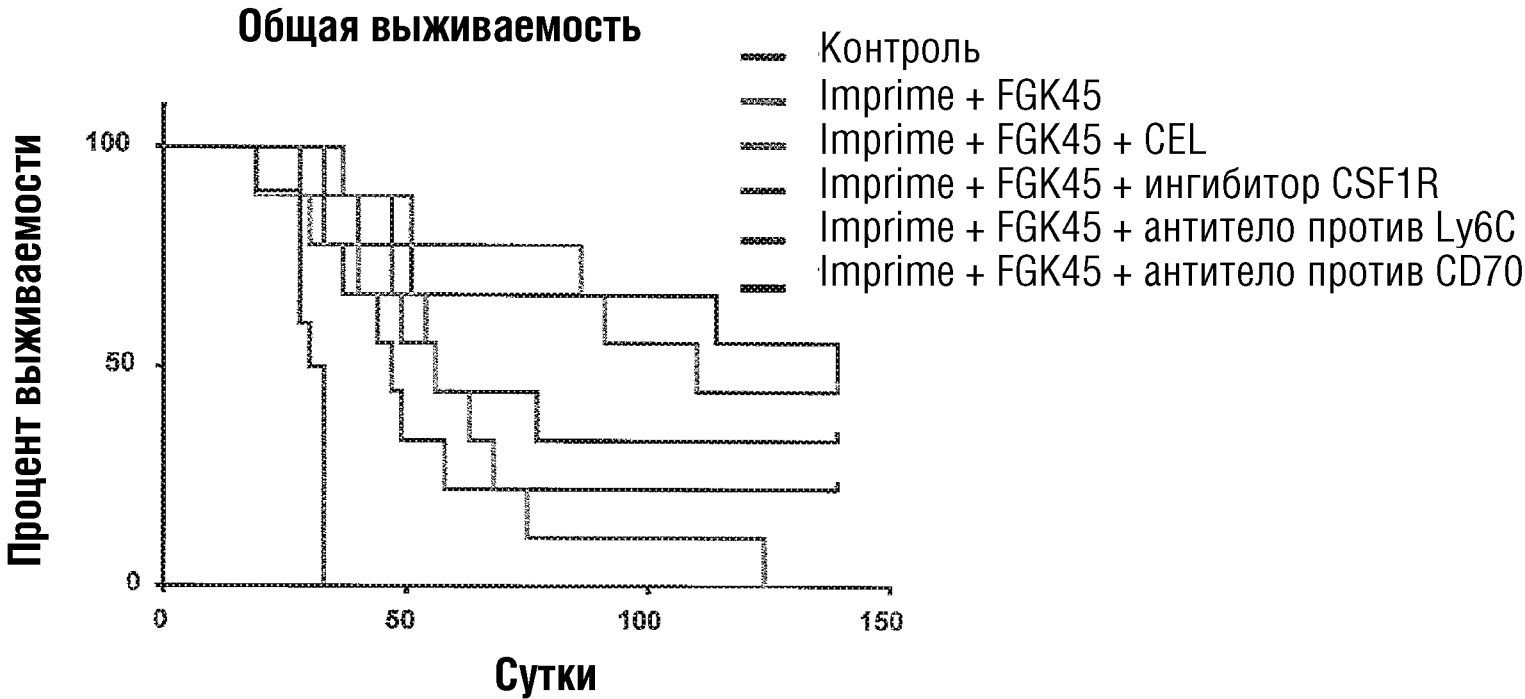


Фигура 4. Сравнение общей выживаемости между группами лечения. Показаны кривые выживаемости Каплана-Майера для мышей, подвергнутых лечению, как указано.

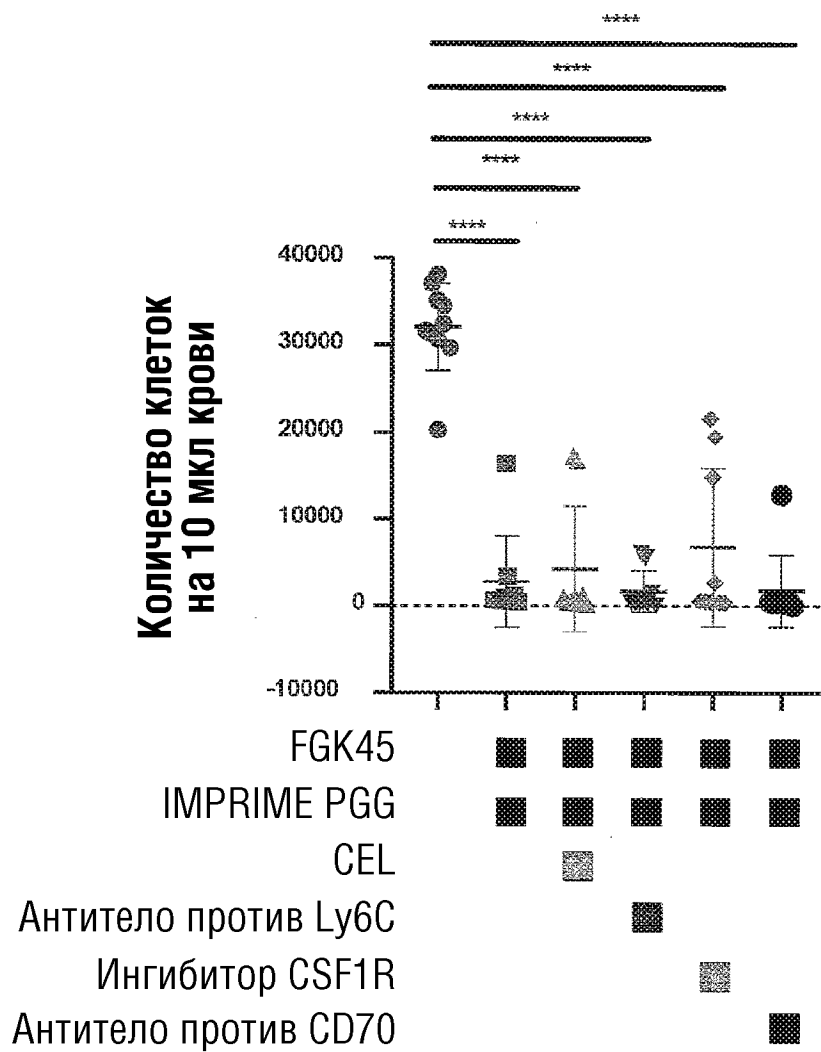
ФИГ.5А



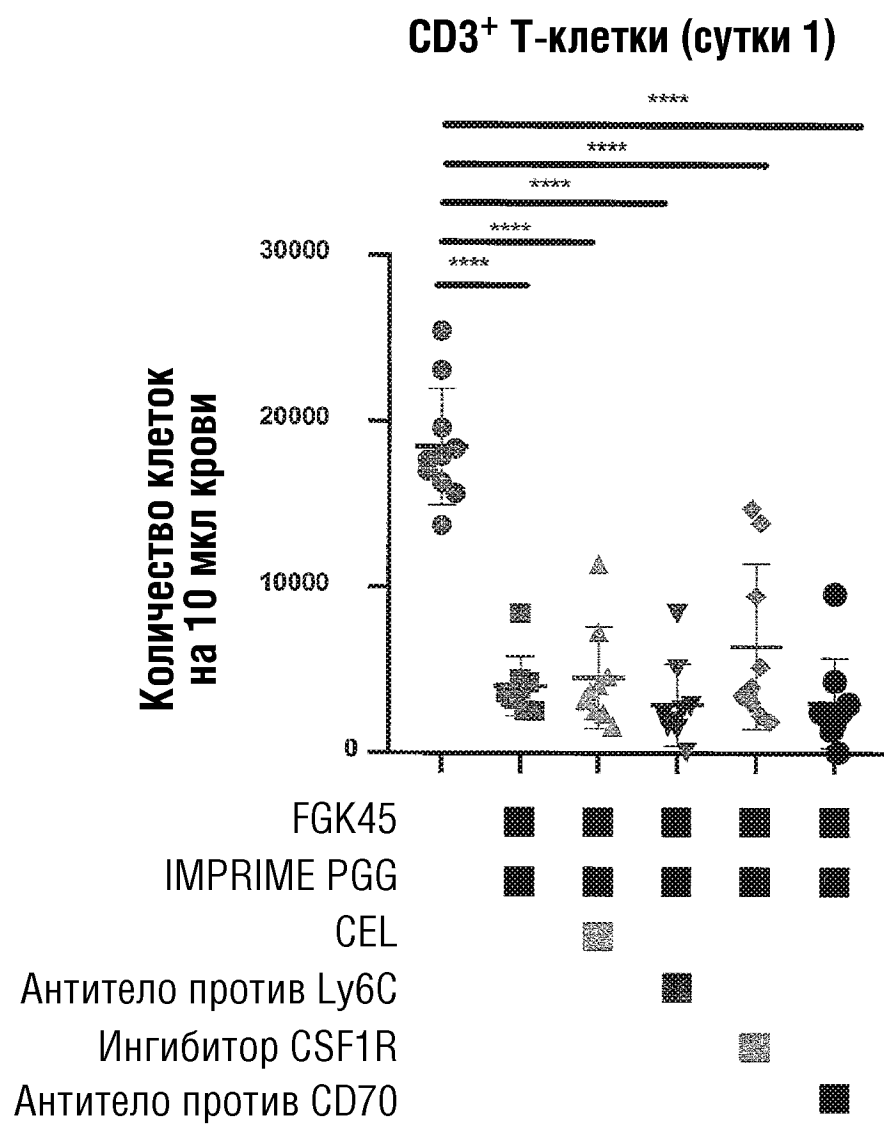
ФИГ.5В



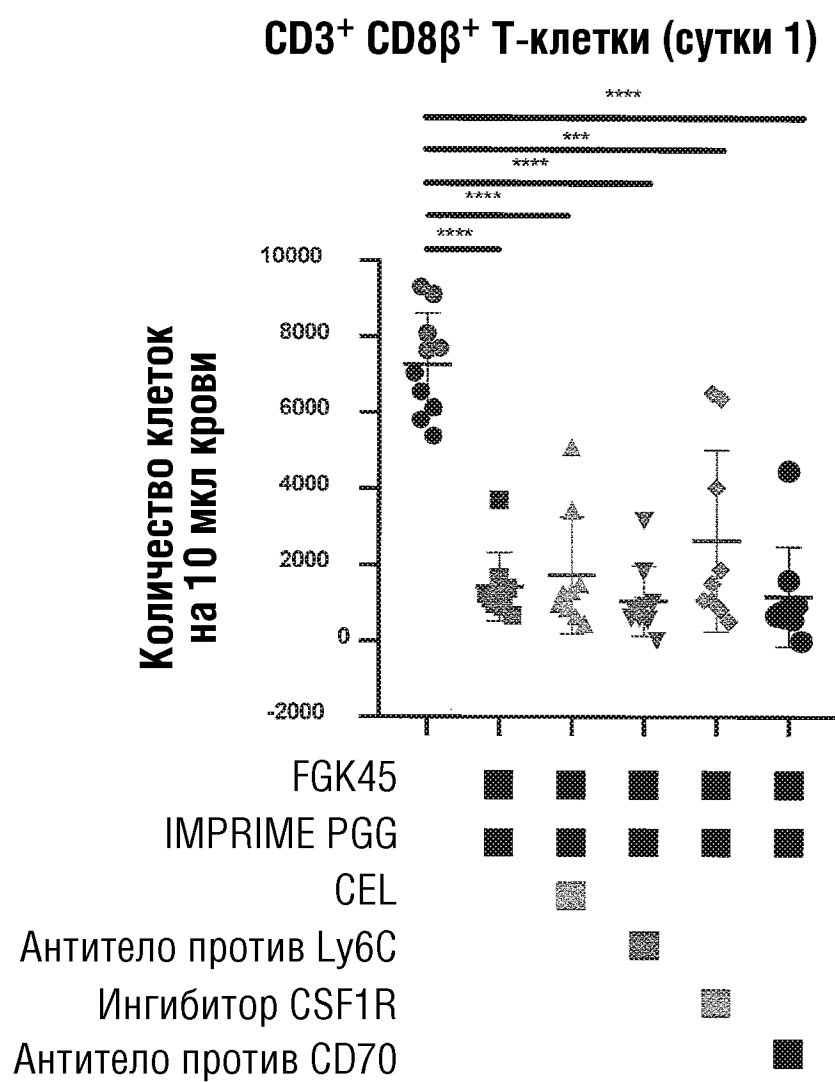
ФИГ.5С

CD19⁺ В-клетки (сутки 1)

ФИГ.5D



ФИГ.5Е



&