

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202092475** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.02.02

(51) Int. Cl. *C12Q 1/6886* (2018.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.04.23

(54) ОТБОР ПАЦИЕНТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ ИНГИБИТОРОВ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА, ОПОСРЕДОВАННОЙ АДЕНОЗИНОМ

(31) 62/661,930

(72) Изобретатель:

(32) 2018.04.24

Лингу Болан, Мерчант Мелинда,
Заксенмайер Крис, Се Минчао (US)

(33) US

(86) PCT/EP2019/060312

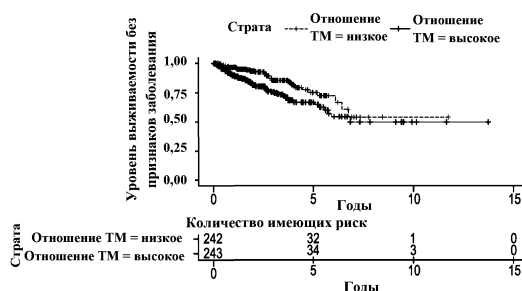
(74) Представитель:

(87) WO 2019/206872 2019.10.31

Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(71) Заявитель:
АСТРАЗЕНЕКА АБ (SE)

(57) В данном документе описаны показатели относительных уровней экспрессии трансмембранного сплайс-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких нетрансмембранных сплайс-вариантов АСРР в данном образце от субъекта. Показатели, обозначенные как ρ , демонстрируют корреляцию с клиническим исходом для субъекта. В некоторых случаях значения ρ , превышающие предварительно определенное пороговое значение, могут быть связаны с худшими исходами. Описаны способы определения ρ и назначения предварительно определенного порогового значения. Также описаны способы лечения рака.



A1

202092475

202092475

A1

ОТБОР ПАЦИЕНТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ ИНГИБИТОРОВ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА, ОПОСРЕДОВАННОЙ АДЕНОЗИНОМ

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа обладают большим потенциалом в качестве противораковых терапевтических средств. Тем не менее, клинически благоприятные эффекты ингибирования контрольных точек иммунного ответа были незначительными. Одно из возможных объяснений незначительности благоприятных эффектов заключается в том, что в опухолях используются неперекрывающиеся механизмы подавления иммунитета для облегчения ускользания от иммунного ответа.

Некоторые формы рака обычно считаются невосприимчивыми к ингибиторам контрольных точек иммунного ответа; рак предстательной железы является одной из таких форм рака. Одной из причин этого отсутствия ответа может быть наличие иммунодепрессивного микроокружения опухоли в опухолях. Внеклеточный аденозин может подавлять иммунные клетки, инфильтрирующие опухоль, благодаря совокупному отрицательному влиянию на передачу сигнала посредством аденозиновых рецепторов, в том числе рецептора A2a (A2aR). Считается, что основным источником внеклеточного аденозина в опухолях является внеклеточный АТР, который метаболизируется до АМР под действием эктонуклеотидазы CD39, а затем превращается из АМР в аденозин под действием эктонуклеотидазы CD73. CD73 заякорена на клеточной мембране с помощью гликозилфосфатидилинозитольной (GPI) связи. Было показано, что выработка аденозина под действием CD73 регулирует вступление в контакт с аденозиновыми рецепторами во многих тканях, что указывает на то, что аденозин функционирует в таких процессах, как цитопротекция, клеточный рост, ангиогенез и подавление иммунитета, а также играет роль в онкогенезе.

Сообщалось об экспрессии CD73 на опухолевых клетках при нескольких типах рака, в том числе колоректальном раке, раке поджелудочной железы, раке мочевого пузыря, лейкозе, лимфоме, глиоме, глиобластоме, меланоме, раке яичника, раке щитовидной железы, раке пищевода, раке предстательной железы и раке молочной железы. Было установлено, что повышенная экспрессия CD73 также ассоциирована с инвазивностью опухоли, метастазированием и пониженной продолжительностью выживания пациентов.

В дополнение к CD73, за выработку внеклеточного аденозина в предстательной железе (в том числе в опухолях предстательной железы) отвечает другой фермент —

простатическая кислая фосфатаза (PAP, название гена ACPP). Поскольку он катализирует такое же превращение AMP в аденозин, как и CD73, PAP может функционировать в качестве ортолога CD73 в опухолях.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте способ лечения рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина, у субъекта включает диагностирование у субъекта рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина, в случае, если в образце от субъекта показатель ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта ACPP по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов ACPP, отличных от ТМ, превышает предварительно определенное пороговое значение; и введение эффективного количества ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, субъекту с диагнозом.

Рак может представлять собой рак предстательной железы, рак легкого, рак мочевого пузыря или другую форму рака. Предварительно определенное пороговое значение ρ является медианным значением, средним значением, верхним квартилем, верхним квинтилем, верхним децилем или другим статистическим показателем ρ в выбранной группе эталонных образцов.

ρ может представлять собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к уровню экспрессии варианта 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или общему уровню экспрессии их комбинации. ρ может представлять собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к уровню экспрессии варианта 1 ACPP. ρ может представлять собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к уровню экспрессии варианта 3 ACPP. ρ может представлять собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к общему уровню экспрессии вариантов 1 и 3 ACPP. ρ может представлять собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к общему уровню экспрессии вариантов 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 ACPP.

Ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, может включать в себя ингибитор CD39, ингибитор CD73, ингибитор PAP, антагонист аденозиновых рецепторов или их комбинацию. Ингибитор CD73 может представлять собой MEDI9447 или AB680. Антагонист аденозиновых рецепторов может являться антагонистом A2aR и/или A2bR. Антагонист аденозиновых рецепторов может представлять собой AZD4635, CPI-444, PBF-509, PBF-1129 или преладенант.

Ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, может включать в себя ингибитор CD73 и антагонист аденозиновых рецепторов. Ингибитор CD73 может

представлять собой MEDI9447, и антагонист аденозиновых рецепторов представляет собой AZD4635.

Образец может представлять собой образец опухоли, образец циркулирующей опухолевой ДНК (ctDNA), образец РНК плазмы крови или образец экзосомы.

В одном аспекте ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, можно применять при лечении рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина, у субъекта, нуждающегося в этом, где в образце от субъекта показатель ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, превышает предварительно определенное пороговое значение.

Другие признаки, цели и преимущества будут очевидными из описания и графических материалов, а также из формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1А, фиг. 1В и фиг. 1С показаны относительные уровни экспрессии NT5E (гена, кодирующего CD73) и АСРР (гена, кодирующего PAP) в различных типах опухолей. Темными кружками показан АСРР; незакрашенными кружками показан NT5E.

На фиг. 2 на графике представлен $\log_2$ отношения уровней экспрессии ТМ-варианта и отличного от ТМ варианта АСРР в нормальной предстательной железе (слева) и в первичных опухолях предстательной железы (справа).

На фиг. 3А показан регрессионный анализ Кокса для оценки взаимосвязи между $\log_2$ отношения уровня ТМ-варианта к уровню варианта, отличного от ТМ, и клиническим исходом с использованием стадии опухоли и возраста диагностирования в качестве ковариат. Показаны отношения рисков и p -значения.

Фиг. 3В представляет собой график оценки по методу Каплана–Мейера, иллюстрирующий различие в уровне выживаемости при сравнении между пациентами с высоким ρ (черным цветом) и пациентами с низким ρ (серым цветом). Порог между высоким ρ и низким ρ определяли, исходя из медианного $\log_2$ отношения уровня ТМ-варианта к уровню варианта, отличного от ТМ, во всех образцах первичной опухоли предстательной железы.

На фиг. 3С сравнивается ρ при различных первичных гистологических паттернах Глисона с использованием диаграмм размаха в диапазоне от 2 до 5 баллов по шкале Глисона, где 2 представляет наименее тяжелое состояние, а 5 представляет наиболее тяжелое состояние. Проводили анализ с использованием критерия Краскела-Уоллиса для

сравнения p среди различных категорий, при этом рассчитанное p -значение демонстрирует значимое различие.

На фиг. 3D сравнивается p среди опухолей с различными стадиями опухоли с использованием диаграмм размаха в диапазоне стадий от T2a до T4, где T2a представляет наименее тяжелое состояние, а T4 представляет наиболее тяжелое состояние. Обозначено медианное значение для каждой группы. Проводили анализ с использованием критерия Краскела-Уоллиса среди различных категорий, при этом рассчитанное p -значение демонстрирует значимое различие.

На фиг. 4 на графике представлен $\log_2$ отношения уровней экспрессии ТМ-варианта и отличного от ТМ варианта АСРР в нормальной предстательной железе (слева), в первичных опухолях предстательной железы (по центру) и в метастазах (справа).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Более 50 лет назад было показано, что уровни РАР являются повышенными в крови пациентов с раком предстательной железы. Было обнаружено, что активность РАР является повышенной у пациентов с метастазами и широко используется в качестве суррогатного маркера рака предстательной железы. Использование РАР больше не является стандартом при скрининге и клиническом контроле, поскольку сывороточный простатический специфический антиген (PSA) был валидирован в качестве прогностического маркера для пациентов с раком предстательной железы.

Относительно недавно в обширном обзоре Атласа ракового генома (TCGA; общедоступной базы данных, содержащей данные геномных, транскриптомных, клинических и протеомных анализов, охватывающих широкий спектр раковых показаний) было показано, что в опухолях предстательной железы АСРР экспрессировался на примерно в 300 раз более высоком уровне, чем NT5E (ген, кодирующий CD73). Более того, АСРР экспрессировался на намного более высоком уровне, чем NT5E, во всех обследованных опухолях (фиг. 1A, фиг. 1B, фиг. 1C). Эти наблюдения позволили предположить, что относительно высокие уровни фермента РАР, отвечающего за выработку аденозина, могут предоставлять опухолям предстательной железы явное преимущество в выживаемости вследствие наличия иммунодепрессивного аденозина в микроокружении опухоли, даже при том, что использование уровней РАР в крови больше не считается достоверным маркером рака предстательной железы.

Для РНК АСРР было идентифицировано в общей сложности девять сплайс-вариантов мРНК. Три из них являются основными формами, которые часто встречаются,

тогда как другие шесть минорных форм представляют небольшую часть общей мРНК АСРР. Только один сплайс-вариант АСРР, одна из основных форм, содержит область, кодирующую трансмембранный (ТМ) домен. Таким образом, РАР обнаруживается в различных изоформах, в том числе мембраносвязанных (ТМ-РАР) и секретируемых (отличных от ТМ-РАР) изоформах. Как более подробно обсуждается ниже, в данной работе неожиданно обнаружено, что показатель относительных уровней экспрессии ТМ-РАР по сравнению с экспрессией форм, отличных от ТМ-РАР, позволяет прогнозировать клинический исход.

Поскольку ТМ-РАР является мембраносвязанным белком, можно ожидать, что локальные концентрации внеклеточного аденозина вблизи клеток с более высокой экспрессией ТМ-РАР могут быть выше, чем в других средах, где экспрессия ТМ-РАР является низкой. Не имея в виду ограничение каким-либо механизмом, предполагают, что более высокая экспрессия ТМ-РАР (по сравнению с формами, отличными от ТМ-РАР) в некоторых опухолях может приводить к локальному увеличению концентраций аденозина, что таким образом приводит к подавлению иммунитета в микроокружении опухоли. Подавление иммунитета в опухоли, в свою очередь, будет способствовать выживанию опухоли, что приведет к ухудшению клинических исходов.

Не имея в виду ограничение каким-либо механизмом, предполагают, что выживание опухолей, экспрессирующих относительно большее количество ТМ-РАР, может в большей степени зависеть от подавления иммунитета, опосредованного аденозином, чем у опухолей, демонстрирующих экспрессию относительно меньшего количества ТМ-РАР. Опухоли, экспрессирующие относительно большее количество ТМ-РАР, могут вследствие этого быть более чувствительными к ингибированию передачи сигнала, опосредованной аденозином (и последующему уменьшению подавления иммунного ответа). Таким образом, субъекты с опухолями, экспрессирующими относительно большее количество ТМ-РАР, могут демонстрировать усиленный ответ на ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, по сравнению с субъектами, опухоли которых экспрессируют относительно меньшее количество ТМ-РАР.

Используемый в данном документе термин "АСРР" относится к гену человека, кодирующему простатическую кислую фосфатазу, т. е. гену, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257 (uswest.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000014257;r=3:132317367-132368298, геномная версия GRCh38.p10).

Используемый в данном документе термин "вариант 1" относится к сплайс-варианту 1 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000336375.9 (ACPP-201). Используемый в данном документе термин "изоформа 1" относится к изоформе 1 PAP — изоформе белка PAP, кодируемой вариантом 1. Вариант 1 является одним из часто встречающихся сплайс-вариантов ACPP.

Используемый в данном документе термин "вариант 2" относится к сплайс-варианту 2 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000351273.11 (ACPP-202). Используемый в данном документе термин "изоформа 2" относится к изоформе 2 PAP, т. е. изоформе белка PAP, кодируемой вариантом 2. Вариант 2, уникальный среди сплайс-вариантов ACPP, кодирует трансмембранный домен. Вариант 2 является одним из часто встречающихся сплайс-вариантов ACPP.

Используемый в данном документе термин "ТМ-вариант" относится к сплайс-варианту ACPP, который кодирует изоформу белка PAP, содержащую трансмембранный домен. Другими словами, термин "ТМ-вариант" является синонимом термина "вариант 2".

Используемый в данном документе термин "ТМ-PAP" относится к изоформе белка PAP, содержащей трансмембранный домен. Другими словами, термин "ТМ-PAP" является синонимом термина "изоформа 2".

Используемый в данном документе термин "вариант 3" относится к сплайс-варианту 3 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000475741.5 (ACPP-203). Используемый в данном документе термин "изоформа 3" относится к изоформе 3 PAP, т. е. изоформе белка PAP, кодируемой вариантом 3. Вариант 3 является одним из часто встречающихся сплайс-вариантов ACPP.

Используемый в данном документе термин "вариант 4" относится к сплайс-варианту 4 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000483689.1 (ACPP-204).

Используемый в данном документе термин "вариант 5" относится к сплайс-варианту 5 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000489084.5 (ACPP-205).

Используемый в данном документе термин "вариант 6" относится к сплайс-варианту 6 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000493235.5 (ACPP-206).

Используемый в данном документе термин "вариант 7" относится к сплайс-варианту 7 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000495911.5 (ACPP-207).

Используемый в данном документе термин "вариант 8" относится к сплайс-варианту 8 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000507647.1 (ACPP-208).

Используемый в данном документе термин "вариант 9" относится к сплайс-варианту 9 ACPP — сплайс-варианту, каталогизированному в базе данных Ensembl под номером записи ENSG00000014257, ID транскрипта ENST00000512463.1 (ACPP-209).

Используемый в данном документе термин "вариант(варианты), отличный(отличные) от ТМ" относится к одному или нескольким сплайс-вариантам ACPP, которые кодируют изоформу белка PAP, не содержащую трансмембранный домен. Другими словами, термин "вариант(варианты), отличный(отличные) от ТМ" относится к одному или нескольким из вариантов 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9.

Используемый в данном документе термин "отличный от ТМ-PAP" в совокупности относится к изоформам белка 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9. Другими словами, термин "отличный от ТМ-PAP" в совокупности относится ко всем не являющимся мембраносвязанными (т. е. растворимым) изоформам PAP.

Используемый в данном документе термин "PAP", если не указано иное, в совокупности относится ко всем изоформам белка, кодируемым ACPP, т. е. "PAP" в совокупности относится к изоформам 1-9.

Используемый в данном документе символ " ρ " относится к показателю относительных уровней экспрессии ТМ-варианта ACPP по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов ACPP, отличных от ТМ, в данном образце. В некоторых вариантах осуществления ρ может представлять собой $\log_2$ отношения значений экспрессии для уровня экспрессии ТМ-варианта ACPP и уровня экспрессии одного или нескольких вариантов ACPP, отличных от ТМ, в данном образце.

Используемый в данном документе термин "рак, характеризующийся повышенным уровнем аденозина" относится к раку, при котором уровни аденозина в микроокружении опухоли повышены по сравнению с окружающей неопухоловой тканью. В некоторых

вариантах осуществления рак, характеризующийся повышенным уровнем аденозина, может представлять собой рак, чувствительный к антагонистам аденозиновых рецепторов. Используемый в данном документе термин "рак, чувствительный к антагонистам аденозиновых рецепторов" относится к раку, который отвечает на лечение с помощью антагониста аденозиновых рецепторов (как в отдельности, так и в комбинации с другим видом лечения). Антагонист аденозиновых рецепторов может являться антагонистом одного или нескольких из аденозиновых рецепторов A1R, A2aR, A2bR и A3R.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта может быть диагностирован рак, характеризующийся повышенным уровнем аденозина, если значение ρ в образце от субъекта превышает предварительно определенное пороговое значение. Для данного типа опухоли предварительно определенное пороговое значение можно назначить, вначале рассчитав значение ρ для большого количества эталонных образцов (например, по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100 или больше). Эталонные образцы могут быть, например, получены от различных пациентов и/или одного и того же пациента в различные моменты времени. Затем можно назначить предварительно определенное пороговое значение после анализа значений ρ для эталонных образцов. Предварительно определенное пороговое значение можно назначить в качестве медианного значения, среднего значения, верхнего квартиля, верхнего квинтиля, верхнего дециля или другого статистического показателя значений ρ для эталонных образцов. В некоторых вариантах осуществления пороговое значение представляет собой медианное значение ρ для эталонных образцов. В некоторых вариантах осуществления пороговое значение может зависеть от конкретных распределений ρ для эталонных образцов.

Пороговые значения могут быть разными для разных типов опухолей. В данном случае тип опухоли относится не только к типу или локализации рака (например, рака предстательной железы или рака легких), но также может относиться к более узкому набору опухолей, характеризующемуся такими признаками, как стадия опухоли, статус мутации одного или нескольких генов, биомаркерный статус, чувствительность к данной терапии, микросателлитная нестабильность и другие. Таким образом, даже в пределах данного типа рака можно идентифицировать субпопуляции, для которых в качестве порогового значения выбрано другое значение ρ . В качестве одного иллюстративного примера, кастрационно-резистентный рак предстательной железы и кастрационно-чувствительный рак предстательной железы могут считаться разными типами опухолей в соответствии с тем, как этот термин используется в данном документе.

Используемый в данном документе термин "ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином" относится к соединению (в том числе без ограничения к малым молекулам и биопрепаратам), которое взаимодействует с одним или несколькими компонентами аденозинового сигнального пути таким образом, что это способно приводить к уменьшению передачи сигнала, опосредованной аденозином. Таким образом, ингибиторы передачи сигнала, опосредованной аденозином, включают без ограничения соединения, которые ингибируют выработку аденозина, и соединения, которые оказывают антагонистическое действие на один или несколько аденозиновых рецепторов. Таким образом, ингибиторы передачи сигнала, опосредованной аденозином, включают соединения, которые ингибируют фермент(ферменты), непосредственно или опосредованно отвечающие за выработку аденозина, в том числе, например, CD39, CD73 и PAF. Примеры ингибиторов CD39 включают IPH52 и POM-1. Примеры ингибиторов CD73 включают MEDI9447 и AB680. Ингибиторы передачи сигнала, опосредованной аденозином, также включают соединения, которые оказывают антагонистическое действие на один или несколько аденозиновых рецепторов (в том числе, например, A1R, A2aR, A2bR и A3R). Примеры антагонистов аденозиновых рецепторов включают без ограничения AZD4635 (химическое название: 6-(2-хлор-6-метилпиридин-4-ил)-5-(4-фторфенил)-1,2,4-триазин-3-амин), CPI-444, PBF-509, PBF-1129 и преладенант.

Антитела и антителоподобные соединения (например, моноклональные антитела, фрагменты антител и т. п.), которые связываются с CD39, CD73, PAF или аденозиновым рецептором, также могут являться ингибиторами передачи сигнала, опосредованной аденозином. Ингибиторы передачи сигнала, опосредованной аденозином, могут также включать соединения, которые ингибируют нижележащие компоненты аденозинового сигнального пути.

Введение одного или нескольких ингибиторов передачи сигнала, опосредованной аденозином, субъекту, у которого диагностирован рак, характеризующийся повышенным уровнем аденозина, может способствовать положительному терапевтическому ответу в отношении рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина. Используемый в данном документе термин "положительный терапевтический ответ" охватывает уменьшение или ингибирование прогрессирования и/или продолжительности рака, уменьшение или ослабление тяжести рака и/или ослабление одного или нескольких его симптомов. Например, уменьшение или ингибирование прогрессирования и/или продолжительности рака можно охарактеризовать как полный ответ. Термин "полный

ответ" относится к отсутствию клинически выявляемого заболевания с нормализацией любых предыдущих аномальных результатов тестов. В качестве альтернативы, улучшение течения заболевания может быть классифицировано как частичный ответ.

В некоторых иллюстративных примерах положительный терапевтический ответ включает один, два, или три или более из следующих результатов: (1) стабилизацию, уменьшение или устранение популяции раковых клеток; (2) стабилизацию или уменьшение роста раковой опухоли; (3) нарушение формирования раковой опухоли; (4) искоренение, устранение или контроль первичного, местнораспространенного и/или метастатического рака; (5) усиление противоракового иммунного ответа; (6) снижение смертности; (7) увеличение выживаемости, продолжительности или частоты ответа без признаков заболевания, без рецидива, без прогрессирования и/или общей выживаемости, продолжительности или частоты ответа; (8) увеличение частоты ответа, продолжительности ответа или количества пациентов, у которых наблюдается ответ или которые находятся в стадии ремиссии; (9) снижение частоты госпитализации, (10) снижение продолжительности госпитализации, (11) сохранение и отсутствие увеличения размера раковой опухоли или его увеличение менее чем на 10%, предпочтительно менее чем на 5%, предпочтительно менее чем на 4%, предпочтительно менее чем на 2%, (12) увеличение количества пациентов в стадии ремиссии и (13) уменьшение количества или интенсивности видов адъювантной терапии (например, химиотерапии или гормональной терапии), которые в других случаях потребовались бы для лечения рака.

В одном аспекте способ лечения рака (например, рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина) у субъекта может включать диагностирование у субъекта рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина, в случае, если в образце от субъекта показатель ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, превышает предварительно определенное пороговое значение; и введение эффективного количества ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, субъекту с диагнозом.

В одном аспекте способ лечения рака (например, рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина) у субъекта может включать измерение в образце от субъекта показателя ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, где измеренное значение ρ превышает предварительно определенное пороговое

значение; и введение эффективного количества ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, субъекту с диагнозом.

В одном аспекте способ лечения рака (например, рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина) у субъекта может включать получение образца от субъекта; измерение в образце от субъекта показателя ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, где измеренное значение ρ превышает предварительно определенное пороговое значение; и введение эффективного количества ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, субъекту с диагнозом.

В одном аспекте способ лечения рака (например, рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина) у субъекта может включать идентификацию субъекта, у которого значение ρ превышает предварительно определенное пороговое значение, где ρ является показателем относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ; и введение эффективного количества ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, субъекту с диагнозом.

В одном аспекте способ идентификации субъекта, у которого имеется рак, подходящий для лечения с помощью ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, может включать определение того, что показатель ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, превышает предварительно определенное пороговое значение.

В одном аспекте способ идентификации рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина, может включать определение показателя ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, в образце от субъекта; определение того, превышает ли ρ предварительно определенное пороговое значение.

В одном аспекте способ лечения рака (например, рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина) может включать определение показателя ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, в образце от субъекта; определение того, превышает ли ρ предварительно определенное пороговое

значение; и введение эффективного количества ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, субъекту с диагнозом.

В одном аспекте ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, может быть предназначен для применения при лечении рака (например, рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина) у субъекта, нуждающегося в этом, где в образце от субъекта показатель ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, превышает предварительно определенное пороговое значение.

В одном аспекте способ прогнозирования ответа субъекта на лечение рака может включать сравнение относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, в образце от субъекта и определение того, превышает ли показатель ρ относительных уровней экспрессии предварительно определенное пороговое значение.

В одном аспекте способ уменьшения подавления иммунитета, опосредованного аденозином, в опухоли субъекта может включать определение того, превышает ли показатель ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или несколько вариантов АСРР, отличных от ТМ, в образце от субъекта предварительно определенное пороговое значение; и введение субъекту эффективного количества ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, в случае, если ρ превышает предварительно определенное пороговое значение.

В некоторых вариантах осуществления рак, характеризующийся повышенным уровнем аденозина, может представлять собой рак предстательной железы, рак легкого, рак мочевого пузыря или другую форму рака. В некоторых вариантах осуществления рак, характеризующийся повышенным уровнем аденозина, может представлять собой рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец опухоли (например, биопсийный образец), образец циркулирующей опухолевой ДНК (ctDNA), образец РНК плазмы крови, образец экзосомы или другой образец, полученный из крови.

Уровни экспрессии различных вариантов АСРР в образце можно измерить любым способом, который позволяет количественно определять уровни мРНК в образце и проводить различия между вариантом ТМ и одним или несколькими вариантами, отличными от ТМ. В некоторых вариантах осуществления может не быть необходимым

проведение различий между одними вариантами, отличными от ТМ, и другими вариантами, отличными от ТМ. Подходящие способы измерения уровней экспрессии различных вариантов АСРР включают без ограничения секвенирование РНК, qPCR или платформозависимые анализы, такие как микроматричный или нанострунный анализ.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 АСРР или общему уровню экспрессии их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 1 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 3 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 4 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 5 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 6 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 7 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 8 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 9 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к общему уровню экспрессии вариантов 1 и 3 АСРР.

В некоторых вариантах осуществления ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к общему уровню экспрессии вариантов 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 АСРР.

Ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, может включать в себя ингибитор CD39, ингибитор CD73, ингибитор PAR, антагонист аденозиновых рецепторов или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, является ингибитором CD39. Ингибитор CD39 может представлять собой IPH52 или POM-1.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, является ингибитором CD73. Ингибитор CD73 может представлять собой MEDI9447 или AB680.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, является антагонистом аденозиновых рецепторов. В некоторых вариантах осуществления антагонист аденозиновых рецепторов является антагонистом A2aR и/или A2bR. Антагонист аденозинового сигнального пути может быть избирательным в отношении A2aR или в отношении A2bR. Антагонист аденозиновых рецепторов может представлять собой AZD4635, CPI-444, PBF-509, PBF-1129 или преладенант.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, может представлять собой комбинацию ингибитора CD73 и антагониста аденозиновых рецепторов. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD73 представляет собой MEDI9447, и антагонист аденозиновых рецепторов представляет собой AZD4635.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы, и ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к уровню экспрессии варианта 1 ACPP.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы, и ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к уровню экспрессии варианта 3 ACPP.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы, и ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к общему уровню экспрессии вариантов 1 и 3 ACPP.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы, и ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 ACPP к общему уровню экспрессии вариантов 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 ACPP.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы, ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 1 АСРР, и предварительно определенное пороговое значение представляет собой медианное значение ρ для большого количества эталонных образцов.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы, ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 3 АСРР, и предварительно определенное пороговое значение представляет собой медианное значение ρ для большого количества эталонных образцов.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы, ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к общему уровню экспрессии вариантов 1 и 3 АСРР, и предварительно определенное пороговое значение представляет собой медианное значение ρ для большого количества эталонных образцов.

ПРИМЕРЫ

Пример 1

При изучении сплайс-вариантов АСРР было отмечено, что только один вариант (вариант 2) кодирует трансмембранный домен, который заякоривает фермент на поверхности клетки. Другие варианты кодируют изоформы, в которых отсутствует этот трансмембранный домен. Поскольку эти другие изоформы, отличные от ТМ, не являются заякоренными, то не ожидается, что они будут локализованы в микроокружении опухоли. Поскольку АСРР экспрессируется на высоком уровне как в нормальной предстательной железе, так и в опухолях, то сравнивали относительные уровни экспрессии варианта АСРР как в нормальной, так и в опухолевой ткани. Хотя вариант, кодирующий ТМ-РАР, как правило, экспрессировался на более низких уровнях, чем варианты, отличные от ТМ, наблюдаемый $\log_2$ отношения уровня ТМ-РАР к уровню вариантов, отличных от ТМ (т. е. ρ), в пределах одного образца был значительно более высоким в образцах опухоли, чем в образцах нормальной предстательной железы (фиг. 2).

На фиг. 2 представлена когорта пациентов с раком предстательной железы из TCGA (cancergenome.nih.gov). Показатели экспрессии мРНК, измеренные с помощью секвенирования РНК, были загружены из OncoLand от Omicsoft (www.omicsoft.com). Клинические аннотации образцов, такие как типы образцов, стадии опухоли, клинические исходы и т. д., были загружены из cBioPortal (www.cbioportal.org). $\log_2$ отношения

измеренной экспрессии мРНК варианта 2 АСРР к измеренной экспрессии мРНК варианта 1 АСРР (иллюстративный измеренный показатель ρ) сравнивали среди 501 образца опухоли предстательной железы и 52 соответствующих образцов нормальной предстательной железы с помощью t-критерия. Результаты указывали на то, что ρ был значительно более высоким в образцах опухоли предстательной железы, чем в образцах нормальной предстательной железы (p -значение $< 0,0001$).

Пример 2

Дальнейшее изучение ρ в образцах TCGA показало взаимосвязь ρ с известными клиническими исходами. Аналогичные взаимосвязи с клиническим исходом наблюдали для таких ковариат, как стадии опухоли (определенные согласно Американскому объединенному комитету по изучению рака в диапазоне от стадии T1 до стадии T4) и возраст диагностирования (фиг. 3A). В частности, пациенты с раком предстательной железы с высоким ρ демонстрируют пониженный уровень выживаемости без признаков заболевания, где порог между "высокими" и "низкими" значениями ρ был определен как медианное значение ρ (фиг. 3B). Кроме того, показано, что более высокое значение ρ связано с более запущенным прогрессированием заболевания, определенным согласно Американскому объединенному комитету по изучению рака (фиг. 3C), и более высокими баллами патологического паттерна по шкале Глисона (фиг. 3D), что указывает на более высокие риски и более высокую смертность.

На фиг. 3A-3D, как указано выше, когорта была составлена из пациентов с раком предстательной железы из TCGA; показатели экспрессии мРНК, измеренные с помощью секвенирования РНК, были загружены из OncoLand от Omicsoft (www.omicsoft.com); клинические аннотации образцов, такие как стадии опухоли, клинические исходы и др., были загружены из cBioPortal (www.cbioportal.org).

На фиг. 3A на лесовидной диаграмме показан регрессионный анализ Кокса в отношении влияния различных переменных на клинический исход, измеренный по уровню выживаемости без признаков заболевания, с использованием когорты пациентов с раком предстательной железы из TCGA. Прогностические переменные включают отношение ТМ, стадии опухоли и возраст диагностирования. Отношение ТМ представляет собой иллюстративный измеренный показатель ρ , который определяется в данном документе как $\log_2$ отношения экспрессии мРНК варианта 2 АСРР к экспрессии мРНК варианта 1 АСРР по данным секвенирования РНК; категория "высокое отношение

ТМ" и категория "низкое отношение ТМ" дополнительно определяются с использованием медианного значения ρ в качестве порогового значения. Стадии опухоли определяли как T2 или T3 (две стадии с большим размером выборки) согласно определению Американского объединенного комитета по изучению рака, при этом T3 представляет собой более запущенную стадию заболевания, чем T2. Отношения рисков, описывающие влияние трех переменных на уровень выживаемости без признаков заболевания, были показаны вместе с соответствующими p -значениями, которые указывали на то, что высокое отношение ТМ связано со сниженным уровнем выживаемости без рецидива (отношение рисков 1,5, p -значение 0,093).

На фиг. 3В показан график Каплана-Мейера для уровня выживаемости без признаков заболевания в той же когорте пациентов с раком предстательной железы TCGA, что и на фиг. 3А, где пациенты разделены на группу с "высоким отношением ТМ" и группу с "низким отношением ТМ", как описано выше. В таблице рисков внизу показано общее количество субъектов, имеющих риск, в обеих группах в каждый отдельный момент времени. На графике показано, что высокое отношение ТМ связано со сниженным уровнем выживаемости без признаков заболевания.

На фиг. 3С показаны диаграммы размаха для отношения ТМ в когорте пациентов с раком предстательной железы из TCGA среди различных групп, выделенных на основании баллов первичного паттерна по шкале Глисона, которые используются в качестве типичных количественных показателей для классификации патологических характеристик опухоли предстательной железы, при этом более высокий балл указывает на более запущенное заболевание с более высокими рисками и более высокой смертностью. Критерий Краскела-Уоллиса среди различных групп указывает на то, что более высокое отношение ТМ связано с более высокими баллами первичного паттерна по шкале Глисона (p -значение = $1,2 \times 10^{-5}$).

На фиг. 3D показаны диаграммы размаха для отношения ТМ в когорте пациентов с раком предстательной железы из TCGA среди различных групп, выделенных на основании стадий опухоли, определенных согласно Американскому объединенному комитету по изучению рака в диапазоне от стадии T2b до стадии T4, при этом более высокая стадия указывает на более запущенное заболевание с более высокими рисками и более высокой смертностью. Критерий Краскела-Уоллиса среди различных групп указывает на то, что более высокое отношение ТМ связано с более запущенными стадиями рака (p -значение = $4,5 \times 10^{-7}$).

Пример 3

Обзор данных микроматричного анализа экспрессии генов ткани нормальной предстательной железы, а также первичной и метастатической опухоли предстательной железы был получен из публикации Taylor BS et al. "Integrative genomic profiling of human prostate cancer". Cancer Cell. 18, 11-22 (2010), которая включена посредством ссылки во всей своей полноте. Были идентифицированы зонды, которые специфично распознавали длинный ТМ-вариант АСРР, и другие зонды, которые распознавали короткие варианты, отличные от ТМ. Путем сравнения соотношения длинных и коротких вариантов АСРР было продемонстрировано, что соотношение экспрессии длинных и коротких транскриптов было значительно более высоким в метастатических опухолях по сравнению как с нормальной тканью, так и с первичной опухолью (фиг. 4). В соответствии с данными TCGA (примеры 1 и 2 выше) соотношение в ткани первичной опухоли предстательной железы также было более высоким, чем в нормальной ткани предстательной железы.

Другие варианты осуществления находятся в пределах объема следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина, у субъекта, включающий:

диагностирование у субъекта рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина, где в образце от субъекта показатель ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, превышает предварительно определенное пороговое значение; и

введение эффективного количества ингибитора передачи сигнала, опосредованной аденозином, субъекту с диагнозом.

2. Способ по п. 1, где рак представляет собой рак предстательной железы, рак легкого, рак мочевого пузыря или другую форму рака.

3. Способ по любому из пп. 1-2, где предварительно определенное пороговое значение ρ является медианным значением, средним значением, верхним квартилем, верхним квинтилем, верхним децилем или другим статистическим показателем ρ в выбранной группе эталонных образцов.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 АСРР или общему уровню экспрессии их комбинации.

5. Способ по любому из пп. 1-3, где ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 1 АСРР.

6. Способ по любому из пп. 1-3, где ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к уровню экспрессии варианта 3 АСРР.

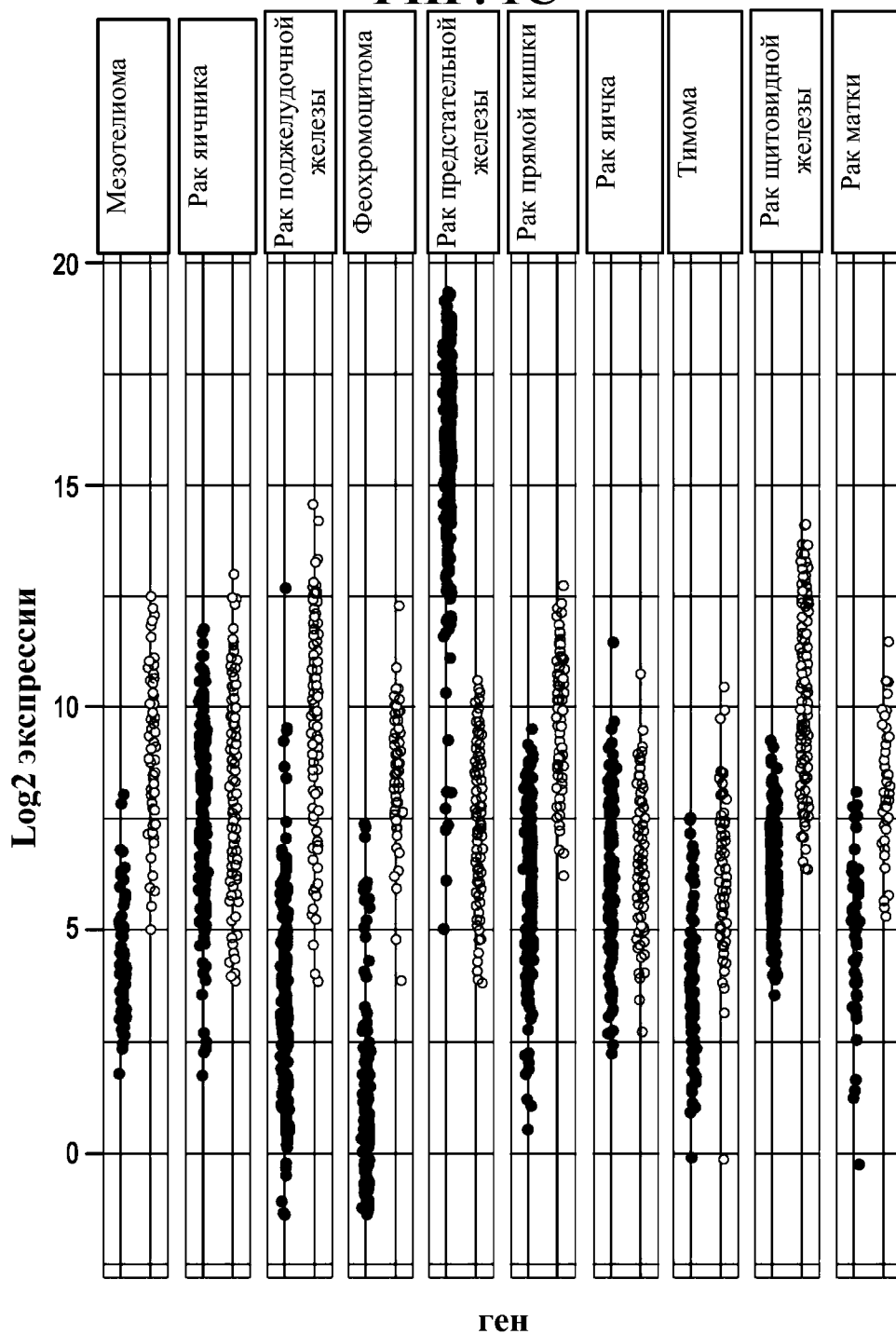
7. Способ по любому из пп. 1-3, где ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к общему уровню экспрессии вариантов 1 и 3 АСРР.

8. Способ по любому из пп. 1-3, где ρ представляет собой $\log_2$ отношения уровня экспрессии варианта 2 АСРР к общему уровню экспрессии вариантов 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 АСРР.

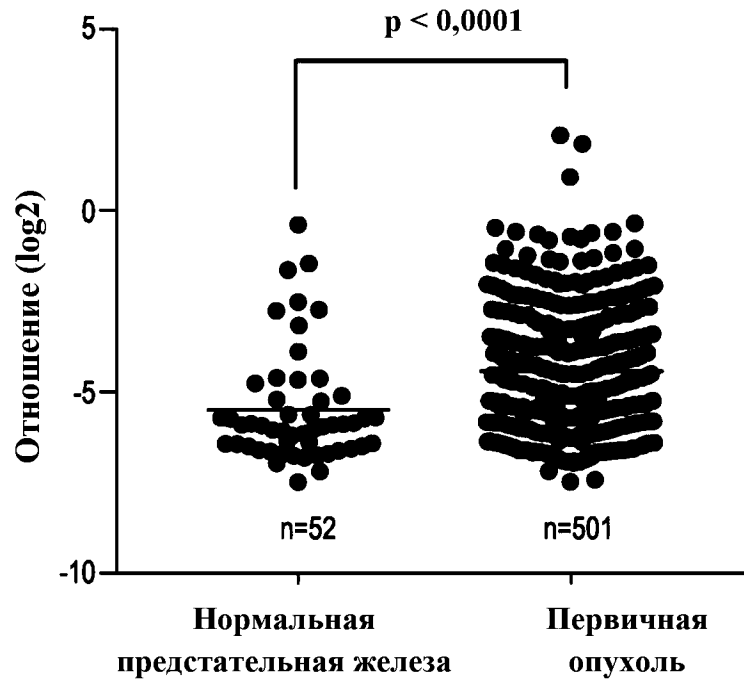
9. Способ по любому из пп. 1-8, где ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, включает в себя ингибитор CD39, ингибитор CD73, ингибитор PАР, антагонист аденозиновых рецепторов или их комбинацию.

10. Способ по п. 9, где ингибитор CD73 представляет собой MEDI9447 или AB680.
11. Способ по любому из пп. 9-10, где антагонист аденозиновых рецепторов является антагонистом A2aR и/или A2bR.
12. Способ по любому из пп. 9-11, где антагонист аденозиновых рецепторов представляет собой AZD4635, CPI-444, PBF-509, PBF-1129 или преладенант.
13. Способ по любому из пп. 9-13, где ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, включает в себя ингибитор CD73 и антагонист аденозиновых рецепторов.
14. Способ по п. 13, где ингибитор CD73 представляет собой MEDI9447, и антагонист аденозиновых рецепторов представляет собой AZD4635.
15. Способ по любому из пп. 1-14, где образец представляет собой образец опухоли, образец циркулирующей опухолевой ДНК (ctDNA), образец РНК плазмы крови или образец экзосомы.
16. Ингибитор передачи сигнала, опосредованной аденозином, для применения при лечении рака, характеризующегося повышенным уровнем аденозина, у субъекта, нуждающегося в этом, где в образце от субъекта показатель ρ относительных уровней экспрессии ТМ-варианта АСРР по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких вариантов АСРР, отличных от ТМ, превышает предварительно определенное пороговое значение.

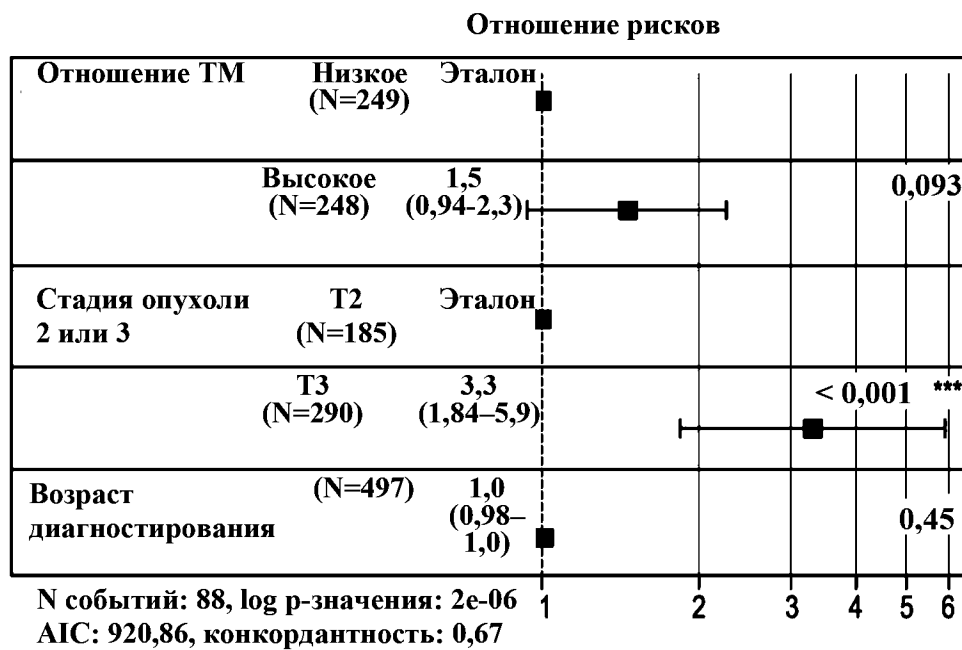
ФИГ. 1С



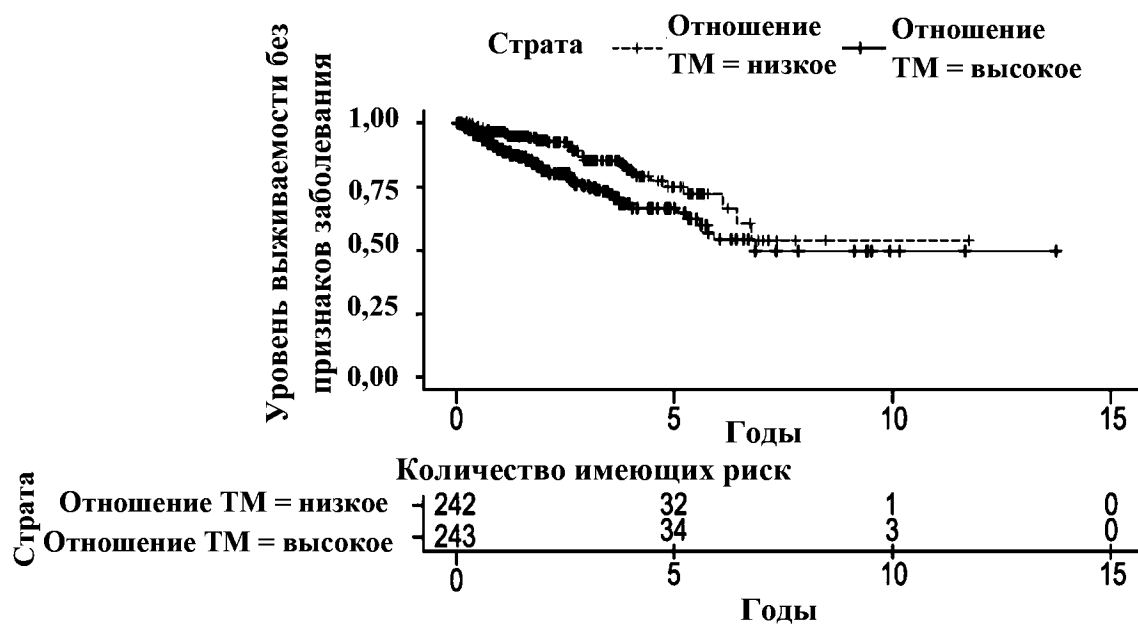
ФИГ. 2



ФИГ. 3А



ФИГ. 3В



ФИГ. 3С



ФИГ. 3D



ФИГ. 4

Тип образца

- Нормальная ткань
- Первичная опухоль
- ◆ Метастазы