

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **041731**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.11.28

(21) Номер заявки
201991986

(22) Дата подачи заявки
2018.02.21

(51) Int. Cl. **A61K 31/4709** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ИНГИБИТОРАМИ ФАРНЕЗИЛТРАНСФЕРАЗЫ**

(31) **62/461,602; 62/507,749; 62/519,819;
15/820,157; 15/820,012; 62/596,653**

(32) **2017.02.21; 2017.05.17; 2017.06.14;
2017.11.21; 2017.11.21; 2017.12.08**

(33) **US**

(43) **2020.02.13**

(86) **PCT/US2018/018989**

(87) **WO 2018/156609 2018.08.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КУРА ОНКОЛОДЖИ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Гвальберто Антонио, Шольц Катрин
Роуз (US)**

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

(56) WITZIG T. ESOKOL LJACOBSEN
EADVANI R HFOSS F MMONDEJAR RPIRIS
M ABOLOGNESE JBURROWS F ET AL.: "The
CXCL12/CXCR4 pathway as a potential target of
tipifarnib: Preliminary results from an open-label,
phase II study in relapsed or refractory peripheral T-
cell lymphoma", BLOOD, AMERICAN SOCIETY
OF HEMATOLOGY, UNITED STATES, vol. 130, no.
Supplement 1, 1 December 2017 (2017-12-01), page
2788, XP009505346, ISSN: 1528-0020, the whole
document

WO-A1-2017184968

WITZIG THOMAS E. ET AL.: "Multi-
institutional phase 2 study of the farnesyltransferase
inhibitor tipifarnib (R115777) in patients with relapsed
and refractory lymphomas", BLOOD, vol. 118, no.
18, November 2011 (2011-11), pages 4882-4889,
XP002781021, tables 2, 3

US-A1-2007093449

(57) Изобретение относится к области лечения рака. Конкретно, предоставлены способы лечения рака, например периферической Т-клеточной лимфомы ("PTCL"), с ингибитором фарнезилтрансферазы (FTI), которые включают определение того, может ли субъект быть чувствительным к лечению FTI, на основании характеристик экспрессии генов.

041731**B1****041731****B1**

Настоящее изобретение относится к области лечения рака. В частности, предложены способы лечения рака ингибиторами фарнезилтрансферазы.

Уровень техники

Стратификация популяции пациентов для улучшения терапевтического ответа становится все более ценной в клиническом лечении больных раком. Ингибиторы фарнезилтрансферазы (FTI) представляют собой терапевтические средства, которые являются полезными при лечении раковых заболеваний, таких как периферическая Т-клеточная лимфома ("PTCL"). Однако пациенты по-разному реагируют на лечение FTI. Таким образом, способы прогнозирования чувствительности субъекта, имеющего рак, к лечению FTI или способы отбора больных раком для лечения FTI представляют собой неудовлетворенные потребности. Способы и композиции, представленные в настоящем документе, удовлетворяют этим требованиям и обеспечивают другие связанные с ними преимущества.

Сущность

В настоящем документе предоставлены способы лечения рака с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему рак с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего рак, на лечение FTI, способы выбора больного раком для лечения FTI, способы стратификации больных раком для лечения FTI и способы повышения ответной реакции популяции больных раком на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего рак, для определения того, что субъект имеет рак с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой нозофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой нозофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой саркому. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак поджелудочной железы представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой кожную Т-клеточную лимфому (CTCL). В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой острый миелоидный лейкоз (AML). В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой острый лимфобластный лейкоз Т-клеток (T-ALL). В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой хронический миелоидный лейкоз (CML).

В настоящем документе предоставлены способы лечения лимфомы с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему лимфому с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего лимфому, на лечение FTI, способы выбора пациента с лимфомой для лечения FTI, способы стратификации пациентов с лимфомой для лечения FTI и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с лимфомой на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего лимфому, для определения того, что субъект имеет лимфому с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой ангиоиммуобластную Т-клеточную лимфому (AITL). В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В настоящем документе предоставлены способы лечения лейкоза с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему лейкоз с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего лейкоз, на лечение FTI, способы выбора пациента с лейкозом для лечения FTI, способы стратификации пациентов с лейкозом для лечения FTI и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с лейкозом на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего лейкоз, для определения того, что субъект имеет лейкоз с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В настоящем документе предоставлены способы лечения острого миелоидного лейкоза с экспрессией CXCL12 (AML) у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему AML с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего AML, на лечение FTI, способы выбора пациента с AML для лечения FTI, способы стратификации пациентов с AML для лечения FTI и способы повыше-

ния ответной реакции популяции пациентов с AML на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего AML, для определения того, что субъект имеет AML с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб. В конкретных вариантах осуществления AML представляет собой впервые диагностированный AML. В конкретных вариантах осуществления субъект, страдающий AML, представляет собой пациента пожилого возраста с высоким риском AML. В конкретных вариантах осуществления AML является рецидивирующим или рефрактерным AML.

В настоящем документе предоставлены способы лечения AITL у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему AITL. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего AITL, на лечение FTI, способы выбора пациента с AITL для лечения FTI, способы стратификации пациентов с AITL для лечения FTI, и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с AITL на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего AITL, для определения того, что субъект имеет гистологию AITL, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб. В некоторых вариантах осуществления гистология AITL характеризуется компонентом опухолевых клеток. В определенных вариантах осуществления компонент опухолевых клеток включает полиморфные опухолевые клетки среднего размера, полученные из фолликулярных хелперных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления гистология AITL характеризуется неопухолевым клеточным компонентом. В определенных вариантах осуществления неопухолевый клеточный компонент включает заметные арборизированные кровеносные сосуды. В определенных вариантах осуществления неопухолевый клеточный компонент включает пролиферацию фолликулярных дендритных клеток. В определенных вариантах осуществления неопухолевый клеточный компонент включает рассеянные EBV-положительные В-бласты. В определенных вариантах осуществления у субъекта диагностировали AITL. В определенных вариантах осуществления диагностика AITL включает визуализацию неопухолевого компонента. В определенных вариантах осуществления диагностика AITL включает визуализацию пролиферации эндотелиальных венул. В определенных вариантах осуществления диагностика AITL включает обнаружение присутствия одного или нескольких из следующих опухолевых маркеров: CXCL13, CD10, PD1 и BCL6. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают характеристику гистологии в образце от субъекта, имеющего лимфому, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если субъект имеет гистологию AITL.

В настоящем документе предоставлены способы лечения PTCL с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему PTCL с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего PTCL, на лечение FTI, способы выбора пациента с PTCL для лечения FTI, способы стратификации пациентов с PTCL для лечения FTI и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с PTCL на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего PTCL, для определения того, что субъект имеет PTCL с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб. В некоторых вариантах осуществления PTCL представляет собой ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому (AITL), PTCL, неуточненное (PTCL-NOS), анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL) - положительную киназу анапластическую лимфому (ALK), ALCL - ALK-негативную, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK) - назальный тип, печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому или подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому. В конкретных вариантах осуществления PTCL представляет собой AITL или PTCL-NOS. В конкретных вариантах осуществления PTCL представляет собой AITL.

В настоящем документе предоставлены способы лечения миелодиспластического синдрома (MDS) с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему MDS с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего MDS, на лечение FTI, способы выбора пациента с MDS для лечения FTI, способы стратификации пациентов с MDS для лечения FTI

и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с MDS на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего MDS, для определения того, что субъект имеет MDS с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В настоящем документе предоставлены способы лечения миелофиброза с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему миелофиброз с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего миелофиброз, на лечение FTI, способы выбора пациента с миелофиброзом для лечения FTI, способы стратификации пациентов с миелофиброзом для лечения FTI, и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с миелофиброзом на лечение FTI. В неко-

торых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего миелофиброз, для определения того, что субъект имеет миелофиброз с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В настоящем документе предоставлены способы лечения макроглобулинемии Вальденстрема с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему макроглобулинемию Вальденстрема с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего макроглобулинемию Вальденстрема, на лечение FTI, способы выбора пациента с миелофиброзом для лечения FTI, способы стратификации пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема для лечения FTI, и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего макроглобулинемию Вальденстрема, для определения того, что субъект имеет макроглобулинемию Вальденстрема с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В настоящем документе предоставлены способы лечения саркомы с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему саркому с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего саркому, на лечение FTI, способы выбора пациента с саркомой для лечения FTI, способы стратификации пациентов с саркомой для лечения FTI и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с саркомой на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего саркому, для определения того, что субъект имеет саркому с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В некоторых вариантах осуществления образец от субъекта может быть биопсией опухоли или образцом жидкости организма. В некоторых вариантах осуществления образец может представлять собой образец цельной крови, частично очищенный образец крови, образец периферической крови, образец сыворотки, образец клеток или образец лимфатического узла. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой моноклеарные клетки периферической крови (PBMC).

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего раком, где у субъекта определяют наличие рака с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лимфомой, где у субъекта определяют наличие лимфомы с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего PTCL, где у субъекта определяют наличие PTCL с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лейкозом, где у субъекта определяют наличие лейкоза с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего MDS, где у субъек-

осуществления лейкоз представляет собой CML. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня мРНК гена в образце от субъекта, страдающего лимфомой. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня мРНК гена в образце от субъекта, страдающего PTCL. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня мРНК гена в образце от субъекта, страдающего MDS. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня мРНК гена в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня мРНК гена в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления уровень мРНК гена определяют с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), qPCR, qRT-ПЦР, RNA-seq, микроматричного анализа, SAGE, методом MassARRAY, секвенирования нового поколения или FISH.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего раком. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак поджелудочной железы представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего лимфомой. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего PTCL. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего MDS. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления уровень белка в гене может быть определен с помощью иммуногистохимического анализа (ИНС), анализа методом иммуноблоттинга (IB), иммунофлуоресцентного (IF) анализа, методом проточной цитометрии (FACS) или твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Анализ ИНС может быть окрашиванием H&E.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего раком, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления эталонное отношение может быть 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 20. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак поджелудочной железы представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего лимфомой, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществ-

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение отношения уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего лимфомой. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему лимфомой, если отношение уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего PTCL. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему PTCL, если уровень экспрессии CXCR4 в образце от субъекта ниже эталонного уровня.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лейкозом. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему лейкозом, если уровень экспрессии CXCL12 в образце от субъекта выше эталонного уровня.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение отношения уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего лейкозом. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему лейкозом, если отношение уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего MDS. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему MDS, если уровень экспрессии CXCR4 в образце от субъекта ниже эталонного уровня.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение отношения уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего MDS. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему MDS, если отношение уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии CXCL12 в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему миелофиброзом, если уровень экспрессии CXCL12 в образце от субъекта выше эталонного уровня.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему миелофиброзом, если уровень экспрессии CXCR4 в образце от субъекта ниже эталонного уровня.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение отношения уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему миелофиброзом, если отношение уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии CXCL12 в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему макроглобулинемией Вальденстрема, если уровень экспрессии CXCL12 в образце от субъекта выше эталонного уровня.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему макроглобулинемией Вальденстрема, если уровень экспрессии CXCR4 в образце от субъекта ниже эталонного уровня.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение отношения уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему макроглобулинемией Вальденстрема, если отношение уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают анализ уровней экспрессии в образце от субъекта с помощью RT-PCR, микроматричного анализа, анализа методом Cytometric Bead Array, ELISA или внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS). В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец сыворотки.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, для лечения лимфомы с экспрессией CXCL12 у субъекта с помощью FTI, способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего лимфому, на лечение FTI, способы выбора пациента с лимфомой для лечения FTI, способы стратификации пациентов с лимфомой для лечения FTI и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с лимфомой на лечение FTI дополнительно включают определение уровня экспрессии маркера AITL, выбранного из группы, состоящей из CXCL13 и PD-1, в образце от субъекта, имеющего лимфому, где, если уровень экспрессии дополнительного гена в образце выше, чем эталонный уровень экспрессии, прогнозируется, что субъект может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса однонуклеотидного варианта (SNV) CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лимфомой. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лимфомой, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет rs2839695 SNV CXCL12 (Sequence Variant Nomenclature - Human Genome Variation Society: NC_000010.10:g.44873849A>G, NC_000010.11:g.44378401A>G, NG_0168.61.1:g.11697T>C, NM_000609.6:c.266+236T>C, NM_001033886.2:c.266+236T>C, NM_00117.8134.1:c.266+236T>C, NM_001277990.1:c.109+2432T>C, NM_199168.3:c.*232T>C, XR_001747171.1:n.331+236T>C, XR_001747172.1:n.331+236T>C, XR_001747173.1:n.331+236T>C, XR_001747174.1:n.331+236T>C. Ранее описанные rs17511729, rs17881270 слились в rs2839695).

В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лимфомой, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в положении 44873186 (HGVS: NC_000010.10:g.44873186C>T) 3' UTR CXCL12. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лейкозом, может реагировать

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV SIK3 в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий макроглобулинемией Вальденстрема, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет SNV в N-концевой кодирующей последовательности SIK3. В конкретных вариантах осуществления SNV в N-концевой кодирующей последовательности представляет собой S986Y. В конкретных вариантах осуществления SNV в N-концевой кодирующей последовательности представляет собой P1076R. В конкретных вариантах осуществления SNV в N-концевой кодирующей последовательности представляет собой P1136R. В конкретных вариантах осуществления SNV в N-концевой кодирующей последовательности представляет собой S1163G. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий макроглобулинемией Вальденстрема, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет SIK3 SNV. В конкретных вариантах осуществления SIK3 SNV представляет собой N559H.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта, страдающего лимфомой. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лимфомой, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет вариант гена R2729Q. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта, страдающего PTCL. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий PTCL, может реагировать на ингибитор митоза, или ему вводят терапевтически эффективное количество ингибитора митоза, если образец имеет вариант гена R2729Q. В некоторых вариантах осуществления ингибитор митоза представляет собой ингибитор аврора-киназы. В некоторых вариантах осуществления ингибитор митоза представляет собой алисертиб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор митоза представляет собой ингибитор PLK-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор митоза представляет собой воласертиб.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий миелофиброзом, мо-

жет реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет вариант гена R2729Q.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий макроглобулинемией Вальденстрема, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет вариант гена R2729Q.

В некоторых вариантах осуществления FTI выбран из группы, состоящей из типифарниба, лонафарниба, CP-609,754, BMS-214662, L778123, L744823, L739749, R208176, AZD3409 и FTI-277. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1-1000 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 200-1200 мг два раза в день ("b.i.d."). В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 600 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 900 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1200 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 975, 1000, 1025, 1050, 1075, 1100, 1125, 1150, 1175 или 1200 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят ежедневно в течение периода от одного до семи дней. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят, чередуя введение через неделю. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дни 1-7 и 15-21 28-дневного цикла лечения. В некоторых вариантах осуществления период лечения может продолжаться до 12 месяцев. В некоторых вариантах осуществления типифарниб вводят перорально в дозе 900 мг два раза в день в дни 1-7 и 15-21 28-дневного цикла лечения.

В некоторых вариантах осуществления FTI вводят до, во время или после облучения. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, также включают введение субъекту терапевтически эффективного количества вторичного активного средства или поддерживающей терапии. В некоторых вариантах осуществления вторичное активное средство представляет собой ДНК-гипометилирующее средство, терапевтическое антитело, которое специфически связывается с раковым антигеном, гемопозитический фактор роста, цитокин, противораковое средство, антибиотик, ингибитор ЦОГ-2, иммуномодулирующее средство, антиtimoцитарный глобулин, иммунодепрессивное средство, кортикостероид или его фармакологическое производное. В некоторых вариантах осуществления вторичное активное средство представляет собой ДНК-гипометилирующее средство, такое как азацитидин или децитабин.

В некоторых вариантах осуществления FTI для использования в композициях и способах, представленных в настоящем документе, представляет собой типифарниб.

Краткое описание фигур

Фиг. 1 - количество циклов лечения, полученных субъектами в клиническом исследовании типифарниба PTCL. Стрелки указывают на продолжающееся лечение.

Фиг. 2 - вероятность выживаемости без прогрессирования (PFS) с течением времени (дни) для отношения CXCL12/CXCR4 меньше или равна 0,200 (медиана PFS (mPFS) 51 дня) и больше 0,200 (mPFS 189 дней).

Фиг. 3 - отношение экспрессии CXCL12/CXCR4 для субъектов с CXCL12 3' UTR SNV rs2839695 (незакрашенный кружки) по сравнению с субъектами с эталонным CXCL12 3' UTR (закрашенные кружки).

Фиг. 4 - вероятность выживаемости без прогрессирования (PFS) с течением времени (дни) для субъектов с CXCL12 3' UTR SNV rs2839695 (mPFS 48 дней) по сравнению с субъектами с эталонным CXCL12 3' UTR (mPFS 189 дней).

Фиг. 5 - количество циклов лечения, полученных субъектами PTCL-NOS, PTCL-AITL, или ALLCL-ALLK в клиническом исследовании PTCL типифарниб. Стрелки указывают на продолжающееся лечение. PR: частичный ответ; SD: стабильное заболевание; PD: прогрессирующее заболевание.

Фиг. 6 - вероятность выживаемости без прогрессирования (PFS) с течением времени (дни) для субъектов с CXCL12 3' UTR SNV rs2839695 (mPFS 50 дней) по сравнению с субъектами с эталонным CXCL12 3' UTR (mPFS 134 дня).

Фиг. 7 - экспрессия CXCL12 в типифарниб-резистентных и типифарниб-чувствительных клеточных линиях Т-клеточного лейкоза и лимфомы (T-LL).

Фиг. 8 - активность типифарниба (IC₅₀) в клеточных линиях T-LL в зависимости от уровней экспрессии CXCL12.

Фиг. 9 - вероятность выживаемости без прогрессирования (PFS) с течением времени (дни) для впервые диагностированных пожилых слабых пациентов с AML в разных тертилях экспрессии CXCL12 (исследование CTEP-20, фаза 2).

Фиг. 10 - вероятность выживаемости без прогрессирования (PFS) во времени (дни) для пациентов с рецидивирующим/рефрактерным АМР в разных квинтилях экспрессии CDCR4 (исследование INT17, фаза 2).

Фиг. 11 - процент снижения SPD по сравнению с циклами лечения с типифарнибом для субъектов с эталонной 3' UTR CXCL12 ("эталон") (8 субъектов) по сравнению с субъектами с вариантом 3' UTR CXCL12 (8 субъектов с CXCL12 3' UTR SNV rs2839695 и один субъект с новым CXCL12 3' UTR вариантом). SPD представляет собой сумму произведений диаметров, которая является мерой размера опухоли. Данные SPD не доступны для 2 пациентов.

Фиг. 12A - пациенты без прогрессирования (%) с течением времени (дни) в группе, получавшей типифарниб (mPFS 133 дней), в сравнении с группой, получавшей последнюю предшествующую терапию (mPFS 85 дней), у пациентов с эталонной 3' UTR CXCL12 (8 пациентов). $p=0,09$.

Фиг. 12B - пациенты без прогрессирования (%) с течением времени (дни) в группе, получавшей типифарниб (mPFS 34 дня), в сравнении с группой, получавшей последнюю предшествующую терапию (mPFS 43 дня), у пациентов с вариантом 3' UTR CXCL12 (8 пациентов с CXCL12 3' UTR SNV rs2839695 и 1 пациент с новым вариантом CXCL12 3' UTR). Никаких существенных различий не наблюдается.

Фиг. 12C - Log отношение экспрессии CXCL12/CXCR4 у субъектов с эталонным CXCL12 3' UTR ("эталон") и субъектов с CXCL12 3' UTR SNV rs2839695 ("rs2839695"). $N=15$. $p=0,038$. Низкая экспрессия CXCL12 наблюдалась в образцах опухоли, несущих вариант CXCL12 rs2839695 3' UTR.

Фиг. 13A - выживаемость без прогрессирования (%) у субъектов, получавших типифарниб в течение времени (дни) в группе с низкой экспрессией CXCL12 (mPFS 49 дней) по сравнению с группой с высокой экспрессией CXCL12 (mPFS 190 дней). $HR=0,22$. $p=0,0015$. Среднее количество предшествующих лечений составляет 4. Низкая экспрессия CXCL12 наблюдалась в образцах опухолей, включающих вариант CXCL12 rs2839695 3' UTR.

Фиг. 13B - выживаемость без прогрессирования (%) у субъектов во время последней предшествующей терапии в течение времени (дни) в группе с низкой экспрессией CXCL12 по сравнению с группой с высокой экспрессией CXCL12. Никаких существенных различий не наблюдается.

Подробное описание

Как используется в настоящем документе, формы единственного числа относятся к одному или нескольким грамматическим объектам предмета. Например, образец относится к одному образцу, двум или более образцам.

Как используется в настоящем документе термин "субъект" относится к млекопитающему. Субъектом может быть человек или млекопитающее, не относящееся к человеку, такое как собака, кошка, полорогие жвачные животные, лошадь, мышь, крыса, кролик или их трансгенные виды. Субъектом может быть пациент, больной раком или больной раком PTCL.

Как используется в настоящем документе, термин "образец" относится к материалу или смеси материалов, содержащих один или несколько представляющих интерес компонентов. Образец от субъекта относится к образцу, полученному от субъекта, включая образцы биологического происхождения ткани или жидкости, полученные, полученные или собранные *in vivo* или *in situ*. Образец может быть получен из области субъекта, включающей предраковые или раковые клетки или ткани. Такими образцами могут быть, но не ограничиваются ими, органы, ткани, фракции и клетки, выделенные из млекопитающего. Примеры образцов включают лимфатический узел, цельную кровь, частично очищенную кровь, сыворотку, костный мозг и моноклеарные клетки периферической крови ("PBMC"). Образец также может быть биопсией ткани. Типичные образцы также включают клеточный лизат, клеточную культуру, клеточную линию, ткань, ткань ротовой полости, желудочно-кишечную ткань, орган, органеллу, биологическую жидкость, образец крови, образец мочи, образец кожи и тому подобное.

Как используется в настоящем документе, термин "анализ" образца относится к проведению этого признанного в области техники анализа для проведения оценки в отношении конкретного свойства или характеристики образца. Свойством или характеристикой образца может быть, например, тип клеток в образце или уровень экспрессии гена в образце.

Как используются в настоящем документе, термины "лечить", "лечение" и "терапия" при использовании в отношении больного раком относятся к действию, которое уменьшает тяжесть рака или тормозит или замедляет прогрессирование рака, включая (a) ингибирование роста злокачественного новообразования или остановку развития злокачественного новообразования и (b) вызывание регрессии рака или задержку или минимизацию одного или нескольких симптомов, связанных с наличием рака.

Как используются в настоящем документе, термин "вводить", "введение" или "применение" относится к процессу доставки или обеспечению доставки соединения или фармацевтической композиции в организм субъекта способом, описанным здесь или иным образом, известным в данной области техники. Введение соединения или фармацевтической композиции включает назначение соединения или фармацевтической композиции для доставки в организм пациента. Типичные формы введения включают пероральные лекарственные формы, такие как таблетки, капсулы, сиропы, суспензии; инъеклируемые лекарственные формы, такие как внутривенные (IV), внутримышечные (IM) или внутримышечные (IP); трансдермальные лекарственные формы, включая кремы, желе, порошки или пластыри; буккальные лекарственные формы; ингаляционные порошки, спреи, суспензии и ректальные суппозитории.

Как используется в настоящем документе, термин "терапевтически эффективное количество" соединения, когда он используется в связи с заболеванием или расстройством, относится к количеству, до-

статочному для обеспечения терапевтического эффекта при лечении или управлении течением заболевания или расстройства или для задержки или минимизации одного или более симптомов, связанных с заболеванием или расстройством.

Терапевтически эффективное количество соединения означает количество соединения, которое при использовании по отдельности или в сочетании с другими видами терапии обеспечит терапевтическую пользу при лечении или лечении заболевания или расстройства. Терапевтически эффективное количество соединения означает количество соединения, которое при использовании отдельно или в сочетании с другими видами терапии обеспечит терапевтический эффект при лечении или управлении течением заболевания или расстройства. Термин охватывает количество, которое улучшает общую терапию, уменьшает или предотвращает симптомы или повышает терапевтическую эффективность другого терапевтического средства. Термин также относится к количеству соединения, которое в достаточной степени вызывает биологический или медицинский ответ биологической молекулы (например, белка, фермента, РНК или ДНК), клетки, ткани, системы, животного или человека, которого добывается исследователь, ветеринар, врач или клиницист.

Как используется в настоящем документе, термин "экспрессировать" или "экспрессия" при использовании в связи с геном относится к процессу, посредством которого информация, переносимая геном, проявляется в виде фенотипа, включая транскрипцию гена в матричную РНК (мРНК), последующую трансляцию молекулы мРНК в полипептидную цепь и ее сборку в конечный белок.

Как используется в настоящем документе, термин "уровень экспрессии" гена относится к количеству или накоплению продукта экспрессии гена, такому как, например, количество продукта РНК гена (уровень РНК гена) или количество продукта белка гена (уровень белка гена). Если ген имеет более одного аллеля, уровень экспрессии гена относится к общей сумме накопления продукта экспрессии всех существующих аллелей для этого гена, если не указано иное.

Как используется в настоящем документе, термин "эталонный" при использовании в связи с количественным значением относится к заранее определенному значению, которое можно использовать для определения значимости значения, измеренного в образце.

Как используется в настоящем документе, термин "эталонный уровень экспрессии" относится к заранее определенному уровню экспрессии гена, который можно использовать для определения значимости уровня экспрессии гена в клетке или в образце. Эталонный уровень экспрессии гена может быть уровнем экспрессии гена в эталонной клетке, определяемым специалистом в данной области. Например, эталонный уровень экспрессии гена CXCL12 может быть его средним уровнем экспрессии в наивных CD4⁺ Т-клетках. Соответственно, можно определить уровень экспрессии гена CXCL12, если он выше, чем средний уровень экспрессии гена в наивных CD4⁺ Т-клетках, указывает на то, что клетка является клеткой с экспрессией CXCL12. Эталонный уровень экспрессии гена также может быть пороговым значением, определяемым специалистом в данной области посредством статистического анализа уровней экспрессии гена в различных образцах клеточных популяций. Например, анализируя уровни экспрессии гена в образцах клеточных популяций, имеющих по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% клеток, о которых известно, что они экспрессируют этот ген, специалист в данной области может определить пороговое значение в качестве эталонного уровня экспрессии гена, который можно использовать для указания процента клеток, экспрессирующих ген, в популяции клеток с неизвестным строением.

Термин "эталонное отношение", используемый в настоящем документе в связи с уровнями экспрессии двух генов, относится к отношению, заранее определенному специалистом в данной области техники, которое можно использовать для определения значимости отношения уровней этих двух генов в клетке или в образце. Эталонное отношение уровней экспрессии двух генов может быть отношением уровней экспрессии этих двух генов в эталонной клетке, определяемым специалистом в данной области. Эталонное отношение также может быть пороговым значением, определяемым обычным специалистом в данной области посредством статистического анализа отношений уровней экспрессии двух генов в различных популяциях выборочных клеток.

Как используется в настоящем документе, термин "ответная реакция" или "реагирующий", когда используется в связи с лечением, относится к эффективности лечения в облегчении или уменьшении симптомов заболевания, подлежащего лечению. Например, больной раком реагирует на лечение FTI, если лечение FTI эффективно ингибирует рост злокачественного новообразования или останавливает развитие злокачественного новообразования, вызывает регрессию злокачественного новообразования или задерживает или минимизирует один или несколько симптомов, связанных с наличием рака у этого пациента.

Ответ на конкретное лечение больного раком можно охарактеризовать как полный или частичный ответ. "Полный ответ" или "CR" относится к отсутствию клинически выявляемого заболевания с нормализацией ранее аномальных рентгенографических исследований, лимфатического узла и спинномозговой жидкости (CSF) или аномальных измерений моноклонального белка. "Частичный ответ" или "PR" относится к уменьшению по меньшей мере примерно на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90% всей измеряемой опухолевой нагрузки (т.е. количество злокачественных клеток, присутствующих у субъекта, или изме-

ряемый объем опухолевых масс или количество аномального моноклонального белка) при отсутствии новых поражений.

Специалист в данной области должен понимать, что клинические стандарты, используемые для определения CR, PR или другого уровня ответной реакции пациента на лечение, могут различаться для разных подтипов рака. Например, для гематопозитических раковых заболеваний пациент, "отвечающий" на конкретное лечение, может быть определен как пациент, который имеет полный ответ (CR), частичный ответ (PR) или гематологическое улучшение (HI) (Lancet et al., Blood 2:2 (2006)). HI может быть определено как любое количество бластов в лимфатических узлах менее 5% или уменьшение количества бластов в лимфатических узлах как минимум вдвое. С другой стороны, пациент, который "не реагирует" на конкретное лечение, может быть определен как пациент с прогрессированием заболевания (PD) или стабилизацией заболевания (SD). Прогрессирование заболевания (PD) может быть определено как >50% увеличение лимфатического узла или % циркулирующего бласта от исходного уровня, или новое появление циркулирующих бластов (по крайней мере 2 раза подряд). Стабильное заболевание (SD) может быть определено как любой ответ, не соответствующий критериям CR, PR, HI или PD.

Как используется в настоящем документе, термин "выбор" и "выбранный" применительно к пациенту (например, пациент с PTCL или пациентом с AML) используется для обозначения того, что конкретный пациент специально выбран из большей группы пациентов на основании (в зависимости от) конкретного пациента, имеющего предварительно определенные критерии или набор предварительно определенных критериев, например, пациент, имеющий отношение уровня экспрессии CXCL12/CXCL4, большее, чем эталонное отношение. Аналогично, "селективное лечение пациента" относится к предоставлению лечения пациенту (например, пациенту с PTCL или AML), который специально выбран из большей группы пациентов на основании (в зависимости от) конкретного пациента, имеющего предварительно определенные критерии или набор предварительно определенных критериев, например, пациент, имеющий отношение уровня экспрессии CXCL12/CXCL4, большее, чем эталонное отношение. Аналогично, "селективное введение" относится к введению лекарственного средства пациенту (например, пациенту с PTCL или AML), который специально выбран из большей группы пациентов на основании (в зависимости от) конкретного пациента, имеющего предварительно определенные критерии или набор предварительно определенных критериев, например, пациент, имеющий отношение уровня экспрессии CXCL12/CXCL4, большее, чем эталонное отношение. Под выбором, селективным лечением и селективным введением подразумевается, что пациенту предоставляется персонализированная терапия для заболевания или расстройства, например, рака (такого как PTCL или AML), на основе биологии пациента, а не стандартная схема лечения, основанная исключительно на наличии заболевания или расстройства (например, PTCL или AML).

Как используется в настоящем документе, термин "вероятность" относится к вероятности события. Субъект "вероятно" будет реагировать на конкретное лечение, когда условие выполняется, означает, что вероятность того, что субъект будет реагировать на конкретное лечение, выше, когда условие выполняется, чем когда условие не выполняется. Вероятность реагировать на конкретное лечение может быть выше, например, на 5, 10, 25, 50, 100, 200% или более у субъекта, который соответствует определенному условию, по сравнению с субъектом, который не соответствует условию. Например, субъект, страдающий PTCL, "вероятно" реагирует на лечение FTI, когда субъект имеет высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, что означает, что вероятность того, что субъект будет реагировать на лечение FTI, составляет 5, 10, 25, 50, 100, 200% или более выше у субъекта, который имеет высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, по сравнению с субъектом, который имеет низкое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4.

CXCL12 (или стромальный фактор 1) является сильным хемотаксическим средством для лимфоцитов. Во время эмбриогенеза CXCL12 направляет миграцию гемопоэтических клеток из печени плода в кость, а во взрослом возрасте CXCL12 играет важную роль в ангиогенезе путем рекрутинга эндотелиальных клеток-предшественников через CXCR4-зависимый механизм. CXCL12 также экспрессируется в красной пульпе селезенки и медуллярных связках лимфатических узлов. См. Pitt et al., 2015, Cancer Cell 27:755-768 and Zhao et al., 2011, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108:337-342. Типичная аминокислотная последовательность и соответствующая последовательность кодирующей нуклеиновой кислоты человеческого CXCL12 могут быть найдены в GENBANK ACCESSION NO.: NP_000600.1 и NM_000609.6 соответственно.

CXCR4 (также известный как фузин или CD184) является рецептором, специфичным в отношении CXCL12. Типичная аминокислотная последовательность и соответствующая последовательность кодирующей нуклеиновой кислоты человеческого CXCR4 могут быть найдены в GENBANK ACCESSION NO.: NP_001008540.1 и NM_001008540.1 соответственно.

Молекулы KIR (иммуноглобулинподобные рецепторы киллерных клеток) представляют собой трансмембранные гликопротеины, экспрессируемые природными клетками-киллерами и некоторыми подгруппами Т-клеток, и включают, например, KIR2DS2, KIR2DS5, KIR3DL1 и KIR3DL2. Типичная аминокислотная последовательность и соответствующая последовательность кодирующей нуклеиновой кислоты человеческого KIR3DL2 могут быть найдены в GENBANK ACCESSION NO.: NP_001229796.1 и

NM_001242867.1 соответственно.

Онкосупрессор LKB1 действует через соль-индуцируемую киназу (SIK2) и SIK3, чтобы стимулировать нуклеоцитоплазматический перенос деацетилаз гистонов класса Ha. См. Walkinshaw et al., 2013, J. Biol. Chem. 288:9345-9362. SIK3 является важной для правильного митоза и подавление SIK3 приводит к задержке выхода из митоза. Ингибирование SIK3 сенситизирует клетки к фармакологическому ингибированию митотических киназ, включая киназу Aurora A, Aurora B, и polo-подобную киназу 1. См. Chen et al., 2014, Cell Death and Disease 5:e1177. Типичная аминокислотная последовательность и соответствующая последовательность кодирующей нуклеиновой кислоты человеческого SIK3 могут быть найдены в GENBANK ACCESSION NO.: NP_001268678.1 и NM_001281749.1 соответственно.

CENPF представляет собой фарнезилированный белок, который связывает кинетохоры. Локализация CENPF в ядерной оболочке при G2/M и в кинетохорах в прометафазе зависит от активности фарнезилтрансферазы. Активность фарнезилтрансферазы также необходима для деградации белка CENPF после митоза. См. Hussein et al., 2002, J. Cell Sci. 115:3403-3414. Типичная аминокислотная последовательность и соответствующая последовательность кодирующей нуклеиновой кислоты человеческого CENPF могут быть найдены в GENBANK ACCESSION NO.: NP_057427.3 и NM_016343.3. соответственно.

Лимфома является наиболее распространенным раком крови. Двумя основными формами лимфомы являются лимфома Ходжкина, или HL, и неходжкинская лимфома, или NHL. Лимфома возникает, когда клетки иммунной системы, называемые лимфоцитами, растут и неконтролируемо размножаются.

Злокачественные лимфоциты могут перемещаться во многие части организма, включая лимфатический узел, селезенку, кровь или другие органы, и образовывать опухоли. В организме есть два основных типа лимфоцитов, которые могут развиваться в лимфомы: В-клетки и Т-клетки.

AML представляет собой рак миелоидной линии клеток крови. AML характеризуется быстрым ростом аномальных лейкоцитов, которые могут накапливаться в костном мозге и мешать выработке нормальных клеток крови. AML является наиболее распространенным острым лейкозом, поражающим взрослых, и его заболеваемость увеличивается с возрастом. На долю AML приходится примерно 1,2% случаев смерти от рака в Соединенных Штатах, и, как правило, ожидается, что его заболеваемость возрастет с возрастом населения. Считают, что симптомы AML связаны с заменой нормального костного мозга лейкозными клетками, что может вызвать снижение количества эритроцитов, тромбоцитов и нормальных лейкоцитов. Симптомы AML могут включать усталость, одышку, легкие кровоподтеки и кровотечение, а также повышенный риск инфекции. AML часто прогрессирует быстро и, как правило, приводит к летальному исходу в течение недель или месяцев, если его не лечить.

PTCL состоит из группы редких и обычно агрессивных (быстрорастущих) NHL, которые развиваются из зрелых Т-клеток.

PTCL в совокупности составляют около 5-10% всех случаев NHL, что соответствует ежегодной заболеваемости около 5000 пациентов в год в США. По некоторым оценкам заболеваемость PTCL значительно растёт и увеличение заболеваемости может быть связано со старением населения.

PTCL подразделяют на различные подтипы, включая анапластическую крупноклеточную лимфому (ALLCL), ALLK-позитивную; ALLCL, ALLK-негативную; ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому (AITL); Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией; внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK), назальный тип; печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому; PTCL, неуточненное (NOS); и подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому. Каждый из этих подтипов, как правило, считается отдельным заболеванием на основании их явных клинических различий. Большинство из этих подтипов являются редкими; тремя наиболее распространенными подтипами являются PTCL NOS, AITL, и ALLCL, и на них в совокупности приходится примерно 70% всех случаев PTCL. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения PTCL представляет собой рецидивирующую или рефрактерную PTCL. В других вариантах осуществления PTCL представляет собой рецидивирующую или рефрактерную прогрессирующую PTCL.

AITL характеризуется гистологически опухолевым клеточным компонентом и неопухолевым клеточным компонентом. Компонент опухолевых клеток включает полиморфные опухолевые клетки среднего размера, полученные из уникального подмножества Т-клеток, расположенных в терминальных центрах лимфатических узлов, называемые фолликулярные Т-хелперы (TFH). TFH экспрессируют CXCL13, VEGF и angptl. CXCL13 может индуцировать экспрессию CXCL12 в мезенхимальных клетках. VEGF и ангиопозитин индуцируют образование венул эндотелиальных клеток, которые экспрессируют CXCL12. Неопухолевый клеточный компонент включает заметные арборизированные кровеносные сосуды, пролиферацию фолликулярных дендритных клеток и рассеянные EBV+ В-бласты. Визуализация арборизированных кровеносных сосудов является отличительной чертой диагноза AITL. Путем визуализации сосудов (эндотелиальные венулы), можно идентифицировать CXCL12, экспрессирующие эндотелиальные клетки. Целевая потеря экспрессии CXCL12 в эндотелиальных клетках сосудов приводит к потере Т-клеточных опухолей в лимфатических узлах, селезенке и костном мозге (Pitt et al., 2015, "CXCL12-Producing Vascular Endothelial Niches Control Acute T Cell Leukemia Maintenance," Cancer Cell 27:755-768). Это местоположения опухоли не только для Т-LL, но также и для AITL.

Т-клетки можно разделить на три основные группы в зависимости от функции: цитотоксические Т-

клетки, Т-хелперы (Th) и регуляторные Т-клетки (Treg). Дифференциальная экспрессия маркеров на клеточной поверхности, а также их различные профили секреции цитокинов предоставляют ценные ключи к разнообразной природе и функции Т-клеток. Например, CD8⁺ цитотоксические Т-клетки разрушают инфицированные клетки-мишени посредством высвобождения перфорина, гранзимов и гранулизына, тогда как CD4⁺ Т-хелперные клетки обладают небольшой цитотоксической активностью и секретируют цитокины, которые действуют на другие лейкоциты, такие как В-клетки, макрофаги, эозинофилы или нейтрофилы для очистки от патогенов. Treg подавляют функцию Т-клеток с помощью нескольких механизмов, включая связывание с подмножествами эффекторных Т-клеток и предотвращение секреции их цитокинов. Т-хелперы могут быть далее классифицированы по разным классам, включая, например, клетки Th1, Th2, Th9, Th7 и Tfh. Дифференциация CD4⁺ Т-клеток на Th1 и Th2 эффекторные клетки в значительной степени контролируется факторами транскрипции TBX21 (T-Box Protein 21; T-bet) и GATA3 (GATA3), соответственно. Как TBX21, так и GATA3 являются факторами транскрипции, которые являются основными регуляторами профилей экспрессии генов в Т-хелперных (Th) клетках, нарушая поляризацию Th в пути дифференциации Th1 и Th2 соответственно. Таким образом, клетки Th1 характеризуются высокими уровнями экспрессии TBX21 и генов-мишеней, активированных TBX21, и низкими уровнями экспрессии GATA3 и генов, активированных GATA3. Напротив, клетки Th2 характеризуются высокими уровнями экспрессии GATA3 и генов-мишеней, активированных GATA3, и низкими уровнями экспрессии TBX21 и генов, активированных TBX21. PTCL и его подтипы (например, PTCL NOS) можно классифицировать на основе происхождения клеточных линий Th1 или Th2.

А. Способы

В настоящем документе предоставлены способы выбора субъекта, страдающего раком, например лимфомой, например PTCL, для лечения с помощью FTI. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому (AITL), PTCL, неутонченную (PTCL-NOS), анапластическую крупноклеточную лимфому (ALLCL) - положительную киназу анапластическую лимфому (ALLK), ALLCL - ALLK-негативную, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK) назальный тип, печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому, или подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому. В определенных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В определенных вариантах осуществления лимфома представляет собой PTCL-NOS. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML (например, впервые диагностированный AML или рецидивирующий или рефрактерный AML). В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML. Способы, представленные в настоящем документе, частично основаны на открытии того, что пациенты с раком с различной экспрессией генов по-разному реагируют на лечение FTI и что клинические преимущества FTI связаны с уровнем экспрессии определенных генов и вариантов генов при злокачественном образовании. Например, методы, представленные в настоящем документе, основаны на открытии того, что пациенты, имеющие более высокое отношение экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4, вероятно, будут реагировать на лечение FTI, и выбор популяции пациентов, имеющих рак с высоким отношением экспрессии CXCL12 к CXCR4 для лечения FTI, может увеличить общую частоту ответа на лечение FTI для этого рака. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

Соответственно, в настоящем документе представлены способы повышения ответной реакции на лечение FTI рака путем избирательного лечения пациентов со злокачественным новообразованием, имеющих специфические уровни экспрессии генов. В настоящем документе также представлены способы отбора популяции пациентов со злокачественным новообразованием для лечения FTI. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, страдающего раком, на лечение FTI на основе уровня экспрессии генов, при этом у субъекта прогнозируется вероятный ответ, если субъект имеет этот уровень экспрессии генов.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения рака у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, страдающему раком, с определенным уровнем экспрессии генов. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта для определения, что субъект имеет рак с этим уровнем экспрессии генов.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, также включают получение образца от субъекта. Образец, используемый в способах, представленных в настоящем документе, включает биологические жидкости от субъекта или биопсию опухоли от субъекта.

В некоторых вариантах осуществления образец, используемый в настоящих способах, включает биопсию (например, биопсия опухоли). Биопсия может быть из любого органа или ткани, например, кожи, печени, легкого, сердца, толстой кишки, почки, костного мозга, зубов, лимфатического узла, волос, селезенки, мозга, груди или других органов. Любая методика биопсии, известная специалистам в данной области, может быть использована для выделения образца у субъекта, например, открытая биопсия, за-

крытая биопсия, кор-биопсия, инцизионная биопсия, эксцизионная биопсия или биопсия тонко игольной аспирацией. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой биопсию лимфатического узла. В некоторых вариантах осуществления образец может представлять собой образец замороженной ткани. В некоторых вариантах осуществления образец может представлять собой фиксированный формалином погруженный в парафин ("FFPE") образец ткани. В некоторых вариантах осуществления образец может представлять собой депарафинизированный срез ткани.

В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец жидкости организма. Неограничивающие примеры жидкостей организма включают кровь (например, периферическую цельную кровь, периферическую кровь), плазму крови, костный мозг, амниотическую жидкость, водянистую влагу, желчь, лимфу, менструации, сыворотку, мочу, спинномозговую жидкость, окружающую головной мозг и спинной мозг, шнур, синовиальную жидкость, окружающую суставы кости.

В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. Образцом крови может быть образец цельной крови, частично очищенный образец крови, или образец периферической крови. Образец крови может быть получен с использованием традиционных методов, как описано, например, в Innis et al., editors, PCR Protocols (Academic Press, 1990).

Лейкоциты могут быть выделены из образцов крови с использованием стандартных методов или коммерчески доступных наборов, например, набор RosetteSep (Stein Cell Technologies, Vancouver, Canada). Субпопуляции лейкоцитов, например, моноклеарные клетки, NK-клетки, В-клетки, Т-клетки, моноциты, гранулоциты или лимфоциты, могут быть дополнительно выделены с использованием традиционных методов, например, активируемая магнитным полем сортировка клеток (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, California) или сортировка клеток с активированной флуоресценцией (FACS) (Becton Dickinson, San Jose, California).

В одном варианте осуществления образец крови составляет от примерно 0,1 до примерно 10,0 мл, от примерно 0,2 до примерно 7 мл, от примерно 0,3 до примерно 5 мл, от примерно 0,4 до около 3,5 мл или от примерно 0,5 до примерно 3 мл. В другом варианте осуществления образец крови составляет примерно 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0 или 10,0 мл.

В одном варианте осуществления образец представляет собой образец костного мозга. Процедуры получения образца костного мозга хорошо известны в данной области, включая, но не ограничиваясь этим, биопсию костного мозга и аспирацию костного мозга. Костный мозг имеет жидкую часть и более твердую часть. При биопсии костного мозга берется образец твердой части. При аспирации костного мозга отбирается образец жидкой части. Биопсия костного мозга и аспирация костного мозга могут проводиться одновременно и называются обследованием костного мозга.

В определенных вариантах осуществления образец, используемый в способах, предоставленных в настоящем документе, включает множество клеток. Такие клетки могут включать клетки любого типа, такие как стволовые клетки, клетки крови (такие как РВМС), лимфоциты, NK-клетки, В-клетки, Т-клетки, моноциты, гранулоциты, иммунные клетки или опухолевые или раковые клетки. Специфичные клеточные популяции могут быть получены с использованием комбинации коммерчески доступных антител (например, Quest Diagnostic (San Juan Capistrano, Calif.); Dako (Denmark)). В определенных вариантах осуществления образец, используемый в способах, представленных в настоящем документе, включает РВМС.

В определенных вариантах осуществления образец, используемый в способах, представленных в настоящем документе, включает множество клеток из пораженной ткани, например, образец опухоли РТCL или АМL от субъекта. В некоторых вариантах осуществления клетки могут быть получены из опухолевой ткани, такой как биопсия опухоли или опухолевые экспланты. В определенных вариантах осуществления количество клеток, используемых в способах, представленных в настоящем документе, может варьироваться от одной клетки до примерно 10^9 клеток. В некоторых вариантах осуществления количество клеток, используемых в способах, представленных в настоящем документе, составляет примерно 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 .

Количество и тип клеток, собранных у субъекта, можно отслеживать, например, путем измерения изменений морфологии и маркеров клеточной поверхности с использованием стандартных методов обнаружения клеток, таких как проточная цитометрия, сортировка клеток, сортировка клеток с активированной иммуноцитохимией флуоресценцией (например, окрашивание тканеспецифическим или маркер специфическими антителами) (FACS), активируемая магнитным полем сортировка клеток (MACS), путем исследования морфологии клеток с использованием световой или конфокальной микроскопии и/или путем измерения изменений в экспрессии генов с использованием методик, хорошо известных в данной области, таких как ПЦР и профилирование экспрессии генов. Эти методы также могут использоваться для идентификации клеток, которые являются положительными для одного или нескольких конкретных маркеров. Сортировка клеток с активированной флуоресценцией (FACS) является хорошо известным методом разделения частиц, в том числе клеток, основанный на флуоресцентных свойствах частиц (Kamarch, 1987, Methods Enzymol, 151:150-165). Лазерное возбуждение флуоресцентных фрагментов в отдельных частицах приводит к небольшому электрическому заряду, позволяющему электромагнитное разделение положительных и отрицательных частиц из смеси. В одном варианте осуществления антитела

или лиганды, специфичные для маркера клеточной поверхности, помечены различными флуоресцентными метками. Клетки обрабатываются через сортировщик клеток, что позволяет разделить клетки на основе их способности связываться с используемыми антителами. Сортированные по FACS частицы могут быть непосредственно помещены в отдельные лунки 96-луночных или 384-луночных планшетов для облегчения разделения и клонирования.

В определенных вариантах осуществления подмножества клеток используются в способах, представленных в настоящем описании. Способы сортировки и выделения специфических популяций клеток хорошо известны в данной области и могут основываться на размере клеток, морфологии или внутриклеточных или внеклеточных маркерах. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, проточную цитометрию, проточную сортировку, FACS, разделение на основе гранул, такое как магнитная сортировка клеток, разделение по размеру (например, сито, массив препятствий или фильтр), сортировку в микрофлюидном устройстве, разделение на основе антител, седиментацию, аффинную адсорбцию, аффинную экстракцию, центрифугирование в градиенте плотности, лазерную захватывающую микродиссекцию и т.д.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови в образце от субъекта, страдающего раком, и введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, если уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови выше, чем эталонный уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак поджелудочной железы представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови в образце от субъекта, страдающего лимфомой, и введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, если уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови выше, чем эталонный уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL, PTCL-NOS, ALLCL - ALLK-позитивную, ALLCL -ALLK-негативную, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK) - назальный тип, печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому или подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В других конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой PTCL-NOS. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови в образце от субъекта, страдающего PTCL, и введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, если уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови выше, чем эталонный уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови в образце от субъекта, страдающего AML, и введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, если уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови выше, чем эталонный уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови. В некоторых вариантах осуществления AML представляет собой впервые диагностированный. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой пожилого пациента с высоким риском AML. В некоторых вариантах осуществления AML является рецидивирующим или рефрактерным AML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови в образце от субъекта, страдающего MDS, и введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, если уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови выше, чем эталонный уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом, и введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, если уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови выше, чем эталонный уровень циркулирующего CXCL12 в

сыворотке крови.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема, и введение терапевтически эффективного количества FТI субъекту, если уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови выше, чем эталонный уровень циркулирующего CXCL12 в сыворотке крови.

В некоторых вариантах осуществления образец, используемый в способах, представленных в настоящем документе, может представлять собой образец цельной крови, частично очищенный образец крови, образец периферической крови, образец сыворотки, образец клеток или образец лимфатического узла. Образец может быть биопсией ткани или биопсией опухоли. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой биопсию лимфатического узла от субъекта, имеющего лимфому, например, PTCL или CTCL. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой PBMC от субъекта, имеющего лимфому, например, PTCL. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой биопсию лимфатического узла или костного мозга от субъекта, страдающего лейкозом, например, AML, T-ALLL или CML. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой PBMC от субъекта, страдающего лейкозом, например, AML, T-ALLL или CML.

Образец может быть биопсией опухоли, образцом крови, образцом лимфатического узла, или любым другим образцом, раскрытым в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления FТI представляет собой типифарниб.

В настоящем документе предоставлены способы лечения рака с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FТI субъекту, имеющему рак с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего рак, на лечение FТI, способы выбора больного раком для лечения FТI, способы стратификации больных раком для лечения FТI и способы повышения ответной реакции популяции больных раком на лечение FТI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего рак, для определения того, что субъект имеет рак с экспрессией CXCL12, до введения FТI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FТI представляет собой типифарниб. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак поджелудочной железы представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В настоящем документе предоставлены способы лечения лимфомы с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FТI субъекту, имеющему лимфому с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего лимфому, на лечение FТI, способы выбора пациента с лимфомой для лечения FТI, способы стратификации пациентов с лимфомой для лечения FТI и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с лимфомой на лечение FТI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего лимфому, для определения того, что субъект имеет лимфому с экспрессией CXCL12, до введения FТI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FТI представляет собой типифарниб. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL, PTCL-NOS, ALLCL -ALLK-позитивную, ALLCL -ALLK-негативную, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK) - назальный тип, печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому или подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой PTCL-NOS. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В настоящем документе предоставлены способы лечения лейкоза с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FТI субъекту, имеющему лейкоз с экспрессией CXCL12. В настоящем документе также предоставлены способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего лейкоз, на лечение FТI, способы выбора пациента с лейкозом для лечения FТI, способы стратификации пациентов с лейкозом для лечения FТI и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с лейкозом на лечение FТI. В некоторых вариантах осуществления способы

включают анализ образца от субъекта, страдающего лейкозом, для определения того, что субъект имеет лейкоз с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб. В определенных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления AML является впервые диагностированным. В конкретных вариантах осуществления субъект представляет собой пожилого пациента с высоким риском AML. В некоторых вариантах осуществления AML является рецидивирующим или рефрактерным AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В настоящем документе предоставлены способы лечения PTCL с экспрессией CXCL12 (например, AITL или PTCL-NOS) у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему PTCL с экспрессией CXCL12. В настоящем описании также представлены способы прогнозирования реакции субъекта, страдающего PTCL (например, AITL или PTCL-NOS) на лечение FTI, способы выбора пациента с PTCL для лечения FTI, способы стратификации пациентов с PTCL для лечения FTI, и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с PTCL на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего PTCL, для определения того, что субъект имеет PTCL с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В настоящем документе предоставлены способы лечения миелодиспластического синдрома (MDS) с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему MDS с экспрессией CXCL12. В настоящем описании также представлены способы прогнозирования реакции субъекта, страдающего MDS, на лечение FTI, способы выбора пациента с MDS для лечения FTI, способы стратификации пациентов с MDS для лечения FTI, и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с MDS на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего MDS, для определения того, что субъект имеет MDS с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В настоящем документе предоставлены способы лечения миелофиброза с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему миелофиброз с экспрессией CXCL12. В настоящем описании также представлены способы прогнозирования реакции субъекта, страдающего миелофиброзом, на лечение FTI, способы выбора пациента с миелофиброзом для лечения FTI, способы стратификации пациентов с миелофиброзом для лечения FTI, и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с миелофиброзом на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего миелофиброз, для определения того, что субъект имеет миелофиброз с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В настоящем документе предоставлены способы лечения макроглобулинемии Вальденстрема с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, имеющему макроглобулинемию Вальденстрема с экспрессией CXCL12. В настоящем описании также представлены способы прогнозирования реакции субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема, на лечение FTI, способы выбора пациента с макроглобулинемией Вальденстрема для лечения FTI, способы стратификации пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема для лечения FTI, и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема на лечение FTI. В некоторых вариантах осуществления способы включают анализ образца от субъекта, имеющего макроглобулинемию Вальденстрема, для определения того, что субъект имеет макроглобулинемию Вальденстрема с экспрессией CXCL12, до введения FTI субъекту. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего раком, где у субъекта определяют наличие рака с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз (например, AML).

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лимфомой, где у субъекта определяют наличие лимфомы с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL, PTCL-NOS, ALLCL -ALLK-позитивную, ALLCL - ALLK-негативную, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK) - назальный тип, печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому или подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому,

связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой PTCL-NOS. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего PTCL, где у субъекта определяют наличие PTCL с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лейкозом, где у субъекта определяют наличие лейкоза с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В некоторых вариантах осуществления AML является впервые диагностированным. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой пожилого пациента с высоким риском AML. В некоторых вариантах осуществления AML является рецидивирующим или рефрактерным AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего MDS, где у субъекта определяют наличие MDS с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом, где у субъекта определяют наличие миелофиброза с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии гена CXCL12 в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема, где у субъекта определяют наличие макроглобулинемии Вальденстрема с экспрессией CXCL12, если уровень экспрессии в образце выше, чем эталонный уровень CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии гена CXCR4 в образце от субъекта, страдающего раком, и отношение уровня экспрессии гена CXCL12 к уровню экспрессии гена CXCR4, где субъект определяется как имеющий высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, если это отношение выше, чем эталонное отношение. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии гена CXCR4 в образце от субъекта, страдающего лимфомой, и отношение уровня экспрессии гена CXCL12 к уровню экспрессии гена CXCR4, где субъект определяется как имеющий высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, если это отношение выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL, PTCL-NOS, ALLCL -ALLK-позитивную, ALLCL - ALLK-негативную, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK) - назальный тип, печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому или подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой PTCL-NOS. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии гена CXCR4 в образце от субъекта, страдающего PTCL, и отношение уровня экспрессии гена CXCL12 к уровню экспрессии гена CXCR4, где субъект определяется как имеющий высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, если это отношение выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии гена CXCR4 в образце от субъекта, страдающего лейкозом, и отношение уровня экспрессии гена CXCL12 к уровню экспрессии гена CXCR4, где субъект определяется как имеющий высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, если это отношение выше, чем эталонное отношение. В определенных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления AML является впервые диагностированным. В конкретных вариантах осуществления субъект представляет собой пожилого пациента с высоким риском AML. В конкретных вариантах осуществления AML является рецидивирующим или рефрактерным AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии гена CXCR4 в образце от субъекта, страдающего MDS, и отношение уровня экспрессии гена CXCL12 к уровню экспрессии гена CXCR4, где субъект определяется как имеющий высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, если это отношение выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии гена CXCR4 в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом, и отношение уровня экспрессии гена CXCL12 к уровню экспрессии гена CXCR4, где субъект определяется как имеющий высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, если это отношение выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии гена CXCR4 в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема, и отношение уровня экспрессии гена CXCL12 к уровню экспрессии гена CXCR4, где субъект определяется как имеющий высокое отношение экспрессии CXCL12/CXCR4, если это отношение выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего раком, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления эталонное отношение может быть 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 20. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой нозофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой нозофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего лимфомой, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления эталонное отношение может быть 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 20. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL, PTCL-NOS, ALLCL - ALLK-позитивную, ALLCL - ALLK-негативную, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK) - назальный тип, печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому или подкожную panniculitopodobную Т-клеточную лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой PTCL-NOS. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего PTCL, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления эталонное отношение может быть 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 20.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего лейкозом, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления эталонное отношение может быть 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или

20. В определенных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления AML является впервые диагностированным. В конкретных вариантах осуществления субъект представляет собой пожилого пациента с высоким риском AML. В конкретных вариантах осуществления AML является рецидивирующим или рефрактерным AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего MDS, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления эталонное отношение может быть 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 20.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления эталонное отношение может быть 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 20.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение отношения экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема, которое должно быть выше, чем эталонное отношение. В некоторых вариантах осуществления эталонное отношение может быть 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 20.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии CXCL12 в образце от субъекта, страдающего раком. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, страдающему раком, если уровень экспрессии CXCL12 в образце от субъекта выше эталонного уровня. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак поджелудочной железы представляет собой местнораспространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего раком. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, страдающему раком, если уровень экспрессии CXCR4 в образце от субъекта ниже эталонного уровня.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение отношения уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего раком. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, страдающему раком, если отношение уровня экспрессии CXCL12 к экспрессии CXCR4 в образце от субъекта выше, чем эталонное отношение.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лимфомой. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества FТИ субъекту, страдающему лимфомой, если уровень экспрессии CXCL12 в образце от субъекта выше эталонного уровня. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL, PTCL-NOS, ALLCL-ALLK-позитивную, ALLCL - ALLK-негативную, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, внеузловую Т-клеточную лимфому из натуральных клеток-киллеров (NK) - назальный тип, печеночно-селезеночную Т-клеточную лимфому или подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой PTCL-NOS. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение уровня экспрессии CXCR4 в образце от субъекта, страдающего лимфо-

деление уровня мРНК гена в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления уровень мРНК гена определяют с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), qPCR, qRT-ПЦР, RNA-seq, микроматричного анализа, SAGE, методом MassARRAY, секвенирования нового поколения или FISH.

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии гена относится к уровню мРНК гена, и предлагаемые в настоящем документе способы включают определение уровня мРНК гена. Способы определения уровня мРНК гена в образце хорошо известны в данной области. Например, в некоторых вариантах осуществления уровень мРНК гена определяют с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), qPCR, qRT-ПЦР, RNA-seq, микроматричного анализа, SAGE, методом MassARRAY, секвенирования нового поколения, или FISH.

Типичные способы обнаружения или количественного определения уровней мРНК включают, но не ограничиваются ими, методы, основанные на ПЦР, Нозерн-блоттинг, анализ с помощью защиты от рибонуклеазы и тому подобное. Последовательность мРНК может быть использована для приготовления зонда, который, по меньшей мере, частично комплементарен. Затем этот зонд можно использовать для обнаружения последовательности мРНК в образце с использованием любого подходящего анализа, такого как методы на основе ПЦР, нозерн-блоттинг, анализ с помощью тест-полоски и тому подобное.

Обычно используемые способы, известные в данной области для количественного определения экспрессии мРНК в образце, включают нозерн-блоттинг и гибридизацию *in situ* (Parker & Barnes, *Methods in Molecular Biology* 106:247-283 (1999)); RNase protection assays (Hod, *Biotechniques* 13:852-854 (1992)); полимеразную цепную реакцию (ПЦР) (Weis et al., *Trends in Genetics* 8:263-264 (1992)). Альтернативно, могут быть использованы антитела, которые могут распознавать специфические дуплексы, включая ДНК-дуплексы, РНК-дуплексы и гибридные дуплексы ДНК-РНК или дуплексы ДНК-белок. Типичные методы анализа экспрессии генов на основе секвенирования включают серийный анализ экспрессии генов (SAGE) и анализ экспрессии генов с помощью массивно-параллельного опознавательного секвенирования (MPSS).

Чувствительным и гибким количественным методом является ПЦР. Примеры методов ПЦР можно найти в литературе. Примеры анализов ПЦР можно найти в патенте США № 6927024, который включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Примеры анализов RT-PCR можно найти в патенте США № 7122799, который включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Способ флуоресцентной ПЦР *in situ* описан в патенте США № 7186507, который включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

Однако, следует отметить, что в описанных здесь методах анализа нуклеиновых кислот могут также использоваться другие протоколы амплификации нуклеиновых кислот (т.е. отличные от ПЦР). Например, подходящие способы амплификации включают лигазную цепную реакцию (см., например, Wu & Wallace, *Genomics* 4:560-569, 1988); анализ замещения цепи (см., например, Walker et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:392-396, 1992; патент США № 5455166) и несколько транскрипционно-опосредованных амплификационных систем, включая способы, описанные в патентах США № 5437990; 5409818 и 5399491; систему амплификации на транскрипционной основе (TAS) (Kwoh et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177, 1989); и самоподдерживающейся репликации последовательностей (3SR) (Guatelli et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878, 1990; WO 92/08800). Альтернативно, могут быть использованы способы, которые усиливают зонд до обнаруживаемых уровней, такие как амплификация помощью с Q-репликазы (Kramer & Lizardi, *Nature* 339:401-402, 1989; Lomeli et al., *Clin. Chem.* 35:1826-1831, 1989). Обзор известных методов амплификации предоставлен, например, Abramson and Myers in *Current Opinion in Biotechnology* 4:41-47 (1993).

мРНК может быть выделена из образца. Образец может представлять собой образец ткани. Образец ткани может быть биопсией опухоли, такой как биопсия лимфатического узла. Общие методы выделения мРНК хорошо известны в данной области и раскрыты в стандартных учебниках по молекулярной биологии, включая Ausubel et al., *Current Protocols of Molecular Biology*, John Wiley and Sons (1997). В частности, выделение РНК может быть выполнено с использованием набора для очистки, набора буферов и протеазы от коммерческих производителей, таких как Qiagen, в соответствии с инструкциями производителя. Например, суммарную РНК из клеток в культуре можно выделить с помощью мини-колонок Qiagen RNeasy. Другие коммерчески доступные наборы для выделения РНК включают набор MASTER-PURE® Complete DNA and RNA Purification Kit (EPICENTRE®, Madison, Wis.) и набор для выделения РНК из парафиновых блоков (Ambion, Inc.). Суммарная РНК из образцов ткани может быть выделена с использованием RNA Stat-60 (Tel-Test). РНК, полученная из опухоли, может быть выделена, например, центрифугированием в градиенте плотности хлорида цезия.

В некоторых вариантах осуществления первой стадией анализа уровня экспрессии генов с помощью ПЦР является обратная транскрипция матричной РНК в кДНК с последующей ее экспоненциальной амплификацией в реакции ПЦР. В других вариантах осуществления можно использовать комбинированную полимеразную цепную реакцию с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР), например, как описано в патенте США № 5310652; 5322770; 5561058; 5641864 и 5693517. Двумя обычно используемыми обратными транскриптазами являются обратная транскриптаза вируса птичьего миелобластома (AMV-RT) и обрат-

ная транскриптаза вируса мышиного лейкоза Молони (MMLV-RT). Стадия обратной транскрипции обычно запускается с использованием специфических праймеров, случайных гексамеров или олиго-dT праймеров в зависимости от условий и цели анализа профиля экспрессии. Например, экстрагированная РНК может быть подвергнута обратной транскрипции с использованием набора для ПЦР GENEAMP™ RNA PCR (Perkin Elmer, Calif, USA), следуя инструкциям производителя. Полученная кДНК затем может быть использована в качестве матрицы в последующей ПЦР-реакции.

В некоторых вариантах осуществления обратную транскрипцию и ПЦР в реальном времени (qRT-PCR) можно использовать как для обнаружения, так и для количественной оценки РНК-мишеней (Bustin, et al., 2005, Clin. Sci., 109:365-379). Примеры способов на основе qRT-PCR можно найти, например, в патенте США № 7101663, который включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Приборы для ПЦР в реальном времени, такие как Applied Biosystems 7500, доступны в продаже, как и реагенты, такие как TaqMan Sequence Detection chemistry.

Например, можно использовать TaqMan® Gene Expression Assays, следуя инструкциям производителя. Эти наборы представляют собой предварительно сформулированные аналитические системы экспрессии генов для быстрого, надежного обнаружения и количественного определения транскриптов мРНК человека, мыши и крысы. TaqMan® или 5'-нуклеазный анализ, как описано в патенте США № 5210015; 5487972 и 5804375; и Holland et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7276-7280, может быть использован. TAQMAN® PCR обычно использует 5'-нуклеазную активность Taq или Tth-полимеразы для гидролиза гибридизационного зонда, связанного с его целевым ампликоном, но можно использовать любой фермент с эквивалентной 5'-нуклеазной активностью. Два олигонуклеотидных праймера используются для образования ампликона, типичного для реакции ПЦР. Третий олигонуклеотид или зонд предназначен для обнаружения нуклеотидной последовательности, расположенной между двумя праймерами ПЦР. Этот зонд не удлиняется ферментом ДНК-полимеразой Taq и его метят флуоресцентным красителем-репортером и гасителем флуоресцентного красителя. Тушение индуцированного лазером излучения от репортерного красителя обеспечивается гасителем флуоресценции, когда два красителя близко друг от друга, в том случае, когда они находятся на одном зонде. В процессе реакции амплификации фермент ДНК-полимераза Taq расщепляет зонд в зависимости от матрицы. Полученные фрагменты зонда диссоциируются в растворе, и сигнал от высвобождаемого репортерного красителя высвобождается в результате гасящего эффекта второго флуорофора. Для каждой вновь синтезируемой молекулы высвобождается одна молекула репортерного красителя, а детекция непогашенного репортерного красителя может быть положена в основу количественной интерпретации данных.

Любой способ, подходящий для обнаружения продукта разложения, можно использовать в 5'-нуклеазном анализе. Часто детекторный зонд маркируется двумя флуоресцентными красителями, один из которых способен гасить флуоресценцию другого красителя. Красители прикреплены к зонду, предпочтительно один прикреплен к 5' концу, а другой прикреплен к внутреннему участку, так что гашение происходит, когда зонд находится в негибридизованном состоянии, и таким образом, что расщепление зонда 5'-3' экзонуклеазной активностью ДНК-полимеразы происходит между двумя красителями.

Амплификация приводит к расщеплению зонда между красителями с сопутствующим устранением гашения и увеличением флуоресценции, наблюдаемой от первоначально погашенного красителя. Накопление продукта разложения контролируется путем измерения увеличения реакции флуоресценции. Накопление продукта разложения контролируется путем измерения увеличения реакции флуоресценции. Патент США № 5491063 и 5571673, оба включенные в настоящее описание посредством ссылки, описывают альтернативные способы обнаружения расщепления зонда, которое происходит одновременно с амплификацией. Данные 5'-нуклеазного анализа сначала выражают как Ct или пороговый цикл. Как обсуждалось выше, величины интенсивности флуоресценции регистрируют во время каждого цикла и представляют как количество продукта, амплифицированного до данного момента времени в реакции амплификации. Момент регистрации первого статистически значимого сигнала флуоресценции представляет собой пороговый цикл (Ct).

Для минимизации ошибок и эффекта варьирования результатов для разных образцов ПЦР обычно проводят с использованием внутреннего стандарта. Идеальный внутренний стандарт выражают как постоянный уровень для различных тканей, на который не влияет экспериментальная обработка. РНК, наиболее часто используемыми для нормализации характеров экспрессии генов, являются мРНК генов "домашнего хозяйства", глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH) и Р-актина.

Праймеры и зонды для ПЦР конструируют на основе интронных последовательностей, присутствующих в амплифицируемом гене. В этом варианте осуществления первой стадией в конструировании праймера/зонда является определение последовательности интронов внутри генов. Это может быть сделано с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как программное обеспечение DNA BLAST, разработанное Kent W., Genome Res. 12(4):656-64 (2002), или с помощью программного обеспечения BLAST, включая его варианты. Последующие стадии следуют хорошо зарекомендовавшим себя способам конструирования праймеров и зондов для ПЦР.

Чтобы избежать неспецифических сигналов, может быть важно маскировать повторяющиеся по-

следовательности внутри интронов при конструировании праймеров и зондов. Это может быть легко достигнуто с помощью программы Repeat Masker, доступной в режиме онлайн через Бэйлорский медицинский колледж, которая подвергает скринингу последовательности ДНК по библиотеке повторяющихся элементов и возвращает последовательность запросов, в которой маскируются повторяющиеся элементы. Затем маскированные интронные последовательности можно использовать для конструирования последовательностей праймеров и зондов с использованием любых коммерчески доступных или иным образом общедоступных пакетов конструирования праймеров/зондов, таких как Primer Express (Applied Biosystems); MGB assay-by-design (Applied Biosystems); Primer3 (Rozen and Skaletsky (2000) Primer3 на WWW для обычных пользователей и для программистов-биологов. In: Krawetz S., Misener S. (eds) Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology. Humana Press, Totowa, N.J., pp 365-386).

RNA-Seq, также называемый шотган-секвенирование полного транскриптома (WTSS), относится к использованию высокопроизводительных технологий секвенирования для секвенирования кДНК с целью получения информации о содержании РНК в образце. Публикации, описывающие RNA-Seq, включают: Wang et al., *Nature Reviews Genetics* 10(1): 57-63 (January 2009); Ryan et al., *BioTechniques* 45(1):81-94 (2008); and Maher et al., *Nature* 458 (7234): 97-101 (January 2009); которые настоящим включены в полном объеме.

Дифференциальная экспрессия генов также может быть идентифицирована или подтверждена с использованием метода с применением микрочипов. В этом методе представляющие интерес полинуклеотидные последовательности (включая кДНК и олигонуклеотиды) наносят или распределяют на подложку микрочипа. Затем массивы этих последовательностей гибридизуют со специфическими ДНК-зондами, полученным из представляющих интерес клеток или тканей.

В варианте осуществления метода с использованием микрочипов ПЦР-амплифицированные вставки кДНК-клонов наносят на субстрат в виде плотного массива. Предпочтительно на субстрат наносят, по меньшей мере, 10000 нуклеотидных последовательностей. Микромассивы генов, иммобилизованных на микрочипе, по 10000 элементов на каждый, являются подходящими для гибридизации в жестких условиях. Флуоресцентно меченные кДНК-зонды могут быть получены путем включения флуоресцентных нуклеотидов с помощью обратной транскрипции РНК, экстрагированной из представляющих интерес тканей. Меченные кДНК зонды наносят на чип для селективной гибридизации с каждым пятном ДНК на массиве. После жесткой промывки для удаления неспецифически связанных зондов указанный чип сканируют с помощью кофокальной лазерной микроскопии или с помощью другого метода обнаружения, такого как CCD-камера. Количественная оценка гибридизации каждого элемента массива позволяет оценить соответствующий избыток мРНК. При двухцветной флуоресценции отдельно меченные кДНК-зонды, генерированные из двух источников РНК, попарно гибридизуют с данным массивом. Таким образом, одновременно определяют относительный избыток транскриптов от двух источников, соответствующих каждому конкретному гену. Миниатюризованный масштаб гибридизации позволяет проводить удобную и быструю оценку характера экспрессии больших количеств генов. Было показано, что такие методы обладают чувствительностью, необходимой для детекции редких транскриптов, которые экспрессируются в нескольких копиях на клетку, а также для репродуцируемой детекции уровней экспрессии, которые отличаются друг от друга, по крайней мере, примерно в два раза (Skena et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93(2):106-149 (1996)). Микроматричный анализ может быть выполнен с помощью имеющегося в продаже оборудования, следуя протоколам производителя, например, с использованием технологии Affymetrix GENCHIP™ или технологии микрочипов Incyte.

Серийный анализ экспрессии генов (SAGE) представляет собой метод, который позволяет проводить одновременный и количественный анализ большого количества транскриптов гена без необходимости предоставления отдельного зонда гибридизации для каждого транскрипта. Сначала генерируется метка короткой последовательности (примерно 10-14 п.о.), которая содержит достаточную информацию для уникальной идентификации транскрипта, при условии, что метка получена из уникальной позиции в каждом транскрипте. Затем многие транскрипты соединяются вместе, образуя длинные последовательные молекулы, которые можно секвенировать, выявляя идентичность нескольких меток одновременно. Характер экспрессии любой популяции транскриптов может быть количественно оценен путем определения численности отдельных меток и идентификации гена, соответствующего каждой метке. Для получения более подробной информации, например, см. Velculescu et al., *Science* 270:484-487 (1995) and Velculescu et al., *Cell* 88:243-51 (1997).

Технология MassARRAY (Sequenom, San Diego, Calif.) представляет собой автоматизированный высокопроизводительный метод анализа экспрессии генов с использованием масс-спектрометрии (МС) для обнаружения. Согласно этому способу после выделения РНК, обратной транскрипции и амплификации ПЦР кДНК подвергают достройки праймера. Полученные из кДНК продукты достройки праймера очищают и распределяют по чиповой матрице, в которую предварительно загружены компоненты, необходимые для подготовки образца MALLTI-TOF MS. Различные кДНК, присутствующие в реакции, количественно определяют путем анализа площадей пиков в полученном масс-спектре.

Уровень мРНК также может быть измерен с помощью анализа, основанного на гибридизации. Типичный метод анализа мРНК может включать стадии:

- 1) получение поверхностно-связанных предметных зондов;
- 2) гибридизация популяции мРНК с поверхностно-связанными зондами в условиях, достаточных для обеспечения специфического связывания;
- (3) промывка после гибридизации для удаления нуклеиновых кислот, не связанных в гибридизации;

и

(4) обнаружение гибридизованных мРНК. Реагенты, используемые на каждом из этих этапов, и условия их использования могут различаться в зависимости от конкретного применения.

Любая подходящая аналитическая платформа может быть использована для определения уровня мРНК в образце. Например, анализ может быть выполнен в виде шупа, мембраны, чипа, диска, тест-полоски, фильтра, микросферы, предметного стекла, многолуночного планшета или оптического волокна. Система анализа может иметь твердую подложку, на которой присоединена нуклеиновая кислота, соответствующая мРНК. Твердым носителем может быть, например, пластик, кремний, металл, смола, стекло, мембрану, частицу, осадок, гель, полимер, лист, сферу, полисахарид, капилляр, пленку, пластину или предметное стекло. Компоненты анализа могут быть получены и упакованы вместе в виде набора для обнаружения мРНК.

При желании нуклеиновая кислота может быть помечена для образования популяции меченых мРНК. Как правило, образец может быть помечен с использованием способов, которые хорошо известны в данной области (например, с использованием ДНК-лигазы, концевой трансферазы или с помощью меченной цепи РНК и т.д.; см., например, Ausubel, et al., *Short Protocols in Molecular Biology*, 3rd ed., Wiley & Sons 1995 and Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Third Edition, 2001 Cold Spring Harbor, N.Y.). В некоторых вариантах осуществления образец метят флуоресцентной меткой. Типичные флуоресцентные красители включают, но не ограничиваются ими, ксантеновые красители, флуоресцирующие красители, родаминовые красители, флуоресцинизиотиоцианат (FITC), 6 карбоксифлуоресцеин (FAM), 6-карбокси-2',4',7',4,7-гексахлорфлуоресцеин (HEX), 6-карбокси-4',5'-дихлор-2',7'-диметоксифлуоресцеин (JOE или J), N,N,N',N'-тетраметил 6 карбоксиродамин (TAMRA или T), 6 карбокси X родамин (ROX или R), 5 карбоксиродамин 6G (R6G5 или G5), 6 карбоксиродамин 6G (R6G6 или G6), и родамин 110; цианиновые красители, например, красители Cy3, Cy5 и Cy7; Alexa красители, например, Alexa-fluor-555; кумарин, диэтиламинокумарин, умбеллиферон; бензимидазные красители, например, Hoechst 33258; фенантридиновые красители, например, тexasский красный; этидий красители; акридиновые красители; карбазоловые красители; феноксазиновые красители; порфириновые красители; полиметиновые красители, красители BODIPY, хиолиновые красители, пирен, флуоресцеин, хлортриазинил, R110, эозин, JOE, R6G, тетраметилродамин, лиссамин, ROX, наптофлуоресцеин и тому подобное.

Гибридизация может быть проведена в подходящих условиях гибридизации, которые могут варьироваться по жесткости по желанию. Типичные условия являются достаточными для образования комплексов зонд/мишень на твердой поверхности между комплементарными связывающими элементами, то есть между поверхностно-связанными предметными зондами и комплементарными мРНК в образце. В определенных вариантах осуществления жесткие условия гибридизации могут быть использованы.

Гибридизация обычно выполняется в жестких условиях гибридизации. Стандартные методы гибридизации (например, в условиях, достаточных для обеспечения специфического связывания мРНК-мишени в образце с зондами) описаны в Kallioniemi et al., *Science* 258:818-821 (1992) и WO 93/18186. Доступно несколько руководств по общим методикам, например, Tjissen, *Hybridization with Nucleic Acid Probes*, Parts I and II (Elsevier, Amsterdam 1993). Для описания методов, подходящих для гибридизации *in situ*, см. Gall et al., *Meth. Enzymol.*, 21:470-480 (1981); и Angerer et al., in *Genetic Engineering: Principles and Methods* (Setlow and Hollaender, Eds.) Vol 7, pgs 43-65 (Plenum Press, New York 1985). Выбор подходящих условий, включая температуру, концентрацию соли, концентрацию полинуклеотида, время гибридизации, жесткость условий промывки и т.п., будет зависеть от плана исследования, включая источник образца, идентичность агентов захвата, ожидаемую степень комплементарности и т.п., и могут быть определены как обычные эксперименты для специалистов в данной области. Специалисты в данной области легко поймут, что альтернативные, но сопоставимые условия гибридизации и промывки могут быть использованы для обеспечения условий сходной жесткости.

После процедуры гибридизации мРНК поверхностно-связанные полинуклеотиды обычно промывают для удаления несвязанных нуклеиновых кислот. Промывка может выполняться с использованием любого удобного протокола промывки, где условия промывки являются как правило жесткими, как описано выше. Затем гибридизацию мРНК-мишени с зондами определяют с использованием стандартных методов.

Любые способы, описанные в настоящем документе или известные в данной области, могут быть использованы для определения уровня мРНК гена в образце от субъекта, описанного в настоящем документе. В качестве примера, в некоторых вариантах осуществления предоставлены способы лечения РТCL у субъекта, которые включают определение уровня мРНК гена CXCL12 в образце от субъекта с использованием qRT-ПЦР и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень мРНК гена CXCL12 в образце выше, чем эталонный уровень экспрессии гена CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, для лече-

ния лимфомы с экспрессией CXCL12 у субъекта с помощью FTI, способы прогнозирования ответной реакции субъекта, имеющего лимфому, на лечение FTI, способы выбора пациента с лимфомой для лечения FTI, способы стратификации пациентов с лимфомой для лечения FTI и способы повышения ответной реакции популяции пациентов с лимфомой на лечение FTI дополнительно включают определение уровня экспрессии маркера AITL, выбранного из группы, состоящей из CXCL13 и PD-1, в образце от субъекта, имеющего лимфому, где, если уровень экспрессии дополнительного гена в образце выше, чем эталонный уровень экспрессии, прогнозируется, что субъект, может реагировать на лечение FTI, или вводят терапевтически эффективное количество FTI.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лейкозом (например, AML, T-ALLL или CML). В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лейкозом (например, AML, T-ALLL, или CML), может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет rs2839695 SNV CXCL12 (A/G в положении 44873849 в 3'-нетранслируемой области (UTR) CXCL12). В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лейкозом (например, AML, T-ALLL, или CML), может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в положении 44873186 3' UTR CXCL12. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лейкозом (например, AML, T-ALLL или CML), может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в 3' UTR CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лимфомой (например, CTCL). В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лимфомой (например, CTCL), может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет rs2839695 SNV CXCL12 (A/G в положении 44873849 в 3'-нетранслируемой области CXCL12 (UTR)). В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лимфомой (например, CTCL), может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в положении 44873186 3' UTR CXCL12. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий лимфомой (например, CTCL), может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в 3' UTR CXCL12. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CXCL12 в образце от субъекта, страдающего PTCL. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий PTCL, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет rs2839695 SNV CXCL12 (A/G в положении 44873849 в 3'-нетранслируемой области CXCL12 (UTR)). В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий PTCL, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в положении 44873186 3' UTR CXCL12. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий PTCL, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в 3' UTR CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CXCL12 в образце от субъекта, страдающего MDS. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий MDS, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет rs2839695 SNV CXCL12 (A/G в положении 44873849 в 3'-нетранслируемой области CXCL12 (UTR)). В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий MDS, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в положении 44873186 3' UTR CXCL12. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий MDS, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в 3' UTR CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CXCL12 в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий миелофиброзом, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет rs2839695 SNV CXCL12 (A/G в положении 44873849 в 3'-нетранслируемой области CXCL12 (UTR)). В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий миелофиброзом, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец не имеет SNV в положении 44873186 3' UTR CXCL12. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий миелофиброзом, может реагировать на лечение FTI,

вариант гена R2729Q. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта, страдающего PTCL. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий PTCL, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет вариант гена R2729Q.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта, страдающего MDS. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий MDS, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет вариант гена R2729Q.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий миелофиброзом, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет вариант гена R2729Q.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления прогнозируется, что субъект, страдающий макроглобулинемией Вальденстрема, может реагировать на лечение FTI, или ему вводят терапевтически эффективное количество FTI, если образец имеет вариант гена R2729Q.

Способы определения SNV и/или статуса мутации путем анализа нуклеиновых кислот хорошо известны в данной области. В некоторых случаях способы включают секвенирование, полимеразную цепную реакцию (ПЦР), ДНК-микрочип, масс-спектрометрию (МС), анализ однонуклеотидного полиморфизма (SNP), денатурирующую высокоэффективную жидкостную хроматографию (DHPLC) или анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (RFLP). В некоторых вариантах осуществления SNV и/или статус мутации определяют с использованием стандартных методов секвенирования, включая, например, секвенирование по Сенгеру, секвенирование следующего поколения (NGS). В некоторых вариантах осуществления SNV и/или статус мутации определяют с помощью МС.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии белка CXCL12 в образце от субъекта, страдающего раком, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень экспрессии белка CXCL12 в образце выше, чем эталонный уровень белка CXCL12. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой нозофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой нозофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак поджелудочной железы представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой AML. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALLL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии белка CXCL12 в образце от субъекта, страдающего лимфомой, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень экспрессии белка CXCL12 в образце выше, чем эталонный уровень белка CXCL12. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой PTCL-NOS. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии белка CXCL12 в образце от субъекта, страдающего PTCL, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень экспрессии белка CXCL12 в образце выше, чем эталонный уровень белка CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии белка CXCL12 в образце от субъекта, страдающего MDS, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень экспрессии белка CXCL12 в образце выше, чем эталонный уровень белка CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включа-

ют определение уровня экспрессии белка CXCL12 в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень экспрессии белка CXCL12 в образце выше, чем эталонный уровень белка CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии белка CXCL12 в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень экспрессии белка CXCL12 в образце выше, чем эталонный уровень белка CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня экспрессии белка KIR3DL2 в образце от субъекта, страдающего PTCL, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень экспрессии белка KIR3DL2 в образце ниже, чем эталонный уровень белка KIR3DL2. В определенных вариантах осуществления экспрессию белка KIR3DL2 определяли с помощью IHC. В определенных вариантах осуществления экспрессию белка KIR3DL2 определяли с помощью FACS.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего раком. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой назофарингеальную карциному, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак поджелудочной железы представляет собой местно-распространенный рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой T-ALL. В конкретных вариантах осуществления лейкоз представляет собой CML. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего лимфомой. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому, связанную с EBV. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой AITL. В конкретных вариантах осуществления лимфома представляет собой CTCL. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего PTCL. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего MDS. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего миелофиброзом. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение уровня белка гена в образце от субъекта, страдающего макроглобулинемией Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления уровень белка в гене может быть определен с помощью иммуногистохимического анализа (IHC), анализа методом иммуноблоттинга (IB), иммунофлуоресцентного (IF) анализа, методом проточной цитометрии (FACS) или твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Анализ IHC может быть окрашиванием H&E.

Способы определения уровня белка гена в образце хорошо известны в данной области. Например, в некоторых вариантах осуществления уровень белка в гене может быть определен с помощью иммуногистохимического анализа (IHC), анализа методом иммуноблоттинга (IB), иммунофлуоресцентного (IF) анализа, методом проточной цитометрии (FACS) или твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). В некоторых вариантах осуществления уровень белка можно определить окрашиванием гематоксилином и эозином ("H&E окрашивание").

Уровень белка в гене может быть обнаружен различными (IHC) подходами или другими методами иммуноанализа. Было показано, что окрашивание срезов ткани IHC является надежным методом оценки или обнаружения присутствия белков в образце. В методах иммуногистохимического исследования используют антитело для зондирования и визуализации клеточных антигенов *in situ*, обычно хромогенными или флуоресцентными методами. Таким образом, антитела или антисыворотки, включая, например, поликлональные антисыворотки или моноклональные антитела, специфичные для каждого гена, используются для выявления экспрессии. Как более подробно обсуждается ниже, антитела могут быть обнаружены путем прямого мечения самих антител, например, с помощью радиоактивных меток, флуоресцентных меток, гаптеновых меток, таких как биотин, или фермента, такого как пероксидаза хрена или щелочная фосфатаза. Альтернативно, немеченое первичное антитело используется в сочетании с меченым вторичным антителом, содержащим антисыворотку, поликлональную антисыворотку или моноклональное антитело, специфичное к первичному антителу. Протоколы и наборы для иммуногистохимического анализа хорошо известны в данной области и являются коммерчески доступными. Автоматизированные системы для получения срезов и обработки IHC имеются в продаже. Система Ventana® BenchMark XT является примером такой автоматизированной системы.

Стандартные иммунологические методы и методы иммуноанализа можно найти в Basic and Clinical Immunology (Stites & Terr eds., 7th ed. 1991). Кроме того, иммуноанализы можно проводить в любой из

нескольких конфигураций, которые подробно рассмотрены в Enzyme Immunoassay (Maggio, ed., 1980); and Harlow & Lane, выше. Для обзора общих иммуноанализов, см. также Methods in Cell Biology: Antibodies in Cell Biology, volume 37 (Asai, ed. 1993); Basic and Clinical Immunology (Stites & Ten, eds., 7th ed. 1991).

Обычно используемые анализы для определения уровня белка в гене включают неконкурентные анализы, например, сэндвич-анализы и конкурентные анализы. Как правило, можно пользоваться анализом, такой как анализ ELISA. Анализы ELISA известны в данной области, например, для анализа широкого спектра тканей и образцов, включая кровь, плазму, сыворотку, биопсию опухоли, лимфатический узел или костный мозг.

Доступен широкий спектр методик иммуноанализа с использованием такого формата анализа, см., например, патенты США № 4016043, 4424279 и 4018653, которые полностью включены в настоящее описание посредством ссылки. Они включают как односайтовые, так и двухсайтовые или сэндвич-анализы неконкурентных типов, а также традиционные конкурентные анализы связывания. Эти анализы также включают прямое связывание меченого антитела с геном-мишенью. Сэндвич-анализы представляют собой обычно используемые анализы. Существует ряд вариаций метода сэндвич-анализа. Например, в типичном прямом анализе немеченое антитело иммобилизовано на твердой подложке, и тестируемый образец приводят в контакт со связанной молекулой. После подходящего периода инкубации в течение периода времени, достаточного для образования комплекса антитело-антиген, затем добавляют второе антитело, специфичное к антигену, меченное репортерной молекулой, способной генерировать детектируемый сигнал, и инкубируют, давая время достаточно для образования другого комплекса антитело-антиген-меченое антитело. Любой непрореагировавший материал вымывается, и присутствие антигена определяется путем наблюдения сигнала, генерируемого репортерной молекулой. Результаты могут быть либо качественными путем простого наблюдения видимого сигнала, либо могут быть количественно оценены путем сравнения с контрольным образцом, содержащим известные количества гена.

Вариации в прямом анализе включают одновременный анализ, в котором и образец, и меченое антитело добавляют одновременно к связанному антителу. Эти методики хорошо известны специалистам в данной области, включая любые незначительные изменения, которые будут очевидны. В типичном прямом сэндвич-анализе первое антитело, обладающее специфичностью к гену, либо ковалентно, либо пассивно связано с твердой поверхностью. Твердая поверхность может быть стеклом или полимером, наиболее часто используемыми полимерами являются целлюлоза, полиакриламид, нейлон, полистирол, поливинилхлорид или полипропилен. Твердые подложки могут быть в форме пробирок, шариков, дисков микропланшетов или любой другой поверхностью, подходящей для проведения иммуноанализа. Процессы связывания хорошо известны в данной области и обычно состоят в перекрестном ковалентном связывании с помощью сшивающего агента или физической адсорбции, после чего комплекс полимер-антитело отмывают при подготовке для тестируемого образца. Затем аликвоту подлежащего тестированию образца добавляют к твердофазному комплексу и инкубируют в течение периода времени (например 2-40 мин или в течение ночи, если это более удобно), который является достаточным, и в подходящих условиях (например, от комнатной температуры до 40°C, например от 25 до 32°C, включительно) для обеспечения связывания любой субъединицы, присутствующей в антителе. После периода инкубации твердую фазу субъединицы антитела отмывают и высушивают, и инкубируют со вторым антителом, специфичным в отношении части гена. Второе антитело связано с репортерной молекулой, которую используют как показатель связывания второго антитела с молекулярным маркером.

В некоторых вариантах осуществления проточная цитометрия (FACS) может быть использована для определения уровня белка гена, который экспрессируется на поверхности клеток. Гены, которые являются поверхностными белками (такими как CXCR3), могут быть обнаружены с использованием антител против этих генов. Проточный цитометр обнаруживает и выдает результаты интенсивности меченого флуорохромом антитела, что указывает на уровень экспрессии гена. Нефлуоресцентные цитоплазматические белки также можно наблюдать путем окрашивания проницаемых клеток. Пятно может быть либо флуоресцентным соединением, способным связываться с определенными молекулами, либо флуорохром-меченым антителом для связывания выбранной молекулы.

Альтернативный способ включает иммобилизацию гена-мишени в образце, а затем воздействие на иммобилизованную мишень специфическим антителом, которое может быть или не быть мечено репортерной молекулой. В зависимости от количества мишени и силы сигнала репортерной молекулы, связанная мишень может быть обнаружена путем прямого мечения антителом. Альтернативно, второе меченое антитело, специфичное к первому антителу, подвергается воздействию комплекса мишень-первое антитело с образованием третичного комплекса мишень-первое антитело-второе антитело. Комплекс обнаруживается по сигналу, испускаемому меченой репортерной молекулой.

В случае иммуноферментного анализа фермент конъюгируют со вторым антителом, обычно с помощью глутаральдегида или периодата. Однако, как будет легко понятно, существует большое разнообразие различных способов конъюгации, которые являются легко доступными для специалиста в данной области. Обычно используемые ферменты включают пероксидазу хрена, глюкозооксидазу, бета-галактозидазу и щелочную фосфатазу и другие, описанные в настоящем документе. Субстраты, которые

следует использовать со специфическими ферментами, обычно выбирают для получения при гидролизе соответствующего фермента детектируемого изменения цвета. Примеры подходящих ферментов включают щелочную фосфатазу и пероксидазу. Также возможно использовать флуорогенные субстраты, которые дают флуоресцентный продукт, а не хромогенные субстраты, отмеченные выше. Во всех случаях меченое ферментом антитело добавляют к первому комплексу антитело-молекулярный маркер, дают возможность связываться, а затем избыток реагента вымывают. Раствор, содержащий соответствующий субстрат, затем добавляют к комплексу антитело-антиген-антитело. Субстрат будет реагировать с ферментом, связанным со вторым антителом, давая качественный визуальный сигнал, который можно затем количественно оценить, обычно спектрофотометрически, чтобы указать количество гена, который присутствовал в образце. Альтернативно, флуоресцентные соединения, такие как флуоресцеин и родамин, могут быть химически связаны с антителами без изменения их способности к связыванию. При активации освещением светом определенной длины волны меченное флуорохромом антитело адсорбирует энергию света, вызывая в молекуле состояние с возбудимостью, с последующим излучением света с характерным цветом, визуально обнаруживаемым с помощью светового микроскопа. Как и в EIA, флуоресцентно меченое антитело может связываться с первым комплексом антитело-молекулярный маркер. После отмывания несвязанного реагента оставшийся третичный комплекс затем подвергают воздействию света соответствующей длины волны, наблюдаемая флуоресценция указывает на присутствие интересующего молекулярного маркера. Методы иммунофлуоресценции и EIA очень хорошо известны в данной области и рассмотрены в настоящем документе.

Любые способы, описанные в настоящем документе или известные в данной области, могут быть использованы для определения уровня белка гена в образце от субъекта, описанного в настоящем документе. В качестве примера, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения PTCL у субъекта, которые включают определение уровня белка гена CXCL12 в образце от субъекта с использованием анализа IF и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если уровень белка гена CXCL12 в образце выше, чем эталонный уровень экспрессии гена CXCL12.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, включают определение доли клеток, экспрессирующих KIR3DL2, в образце от субъекта, страдающего PTCL, и введение терапевтически эффективного количества FTI субъекту, если доля клеток, экспрессирующих KIR3DL2 в образце, ниже, чем эталонный уровень.

Способы анализа клеточного состава образца от субъекта хорошо известны в данной области, включая такие, как иммуногистохимический анализ (ИНС), иммунофлуоресцентный (IF) анализ и проточная цитометрия (FACS).

В некоторых вариантах осуществления строение клетки определяют с помощью ИНС анализа. Различные ИНС анализы описаны в настоящем документе. Например, в некоторых вариантах осуществления ИНС окрашивание можно проводить на депарафинизированном срезе ткани антителом, которое связывается с интересующим белком, инкубируя в течение ночи при 4°C после перекисного окисления и блокирования белка. Микроволновое демаскирование эпитопа в 10 mM Tris/HCl pH9, содержащем 1 mM этилендиаминтетрауксусную кислоту, можно использовать для антитела, и соответствующий отрицательный контроль (без первичного антитела) и положительный контроль (срезы миндалин или опухоли молочной железы) можно окрашивать параллельно с каждым исследованным набором опухолей. См., например, Iqbal et al., Blood 123 (19): 2915-23 (2014).

В некоторых вариантах осуществления строение клетки определяют проточной цитометрией (FACS). Различные способы использования FACS для идентификации и перечисления конкретных подмножеств Т-клеток хорошо известны в данной области и коммерчески доступны. Маркеры клеточной поверхности могут быть использованы для идентификации конкретной клеточной популяции. Оценивая уникальный репертуар маркеров клеточной поверхности, используя несколько антител вместе, каждое из которых связано с различными флуорохромами, можно идентифицировать и количественно определить данную популяцию клеток. Доступные технологии включают технологию многоцветной проточной цитометрии от BD Biosciences, технологию иммунофенотипирования с помощью проточной цитометрии от Abcam и т.п. Для различения клеточных популяций можно использовать различные стратегии стробирования и анализа данных.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы, которые включают анализ состава клеток образца крови от субъекта с использованием проточной цитометрии.

Любые способы анализа уровней экспрессии (например, уровень белка или уровень мРНК), описанные в настоящем документе или известные в данной области техники, могут быть использованы для определения уровня дополнительного гена в образце, такие как анализ ИНС, анализ IB, анализ IF, FACS, ELISA, микроматричный анализ белка, qPCR, qRT-PCR, RNA-seq, микроматричный анализ РНК, SAGE, метод MassARRAY, секвенирование нового поколения или FISH.

В. Фармацевтические композиции

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения субъекта с помощью FTI или фармацевтической композиции, включающей FTI. Фармацевтические компози-

ции, представленные в настоящем документе, включают терапевтически эффективные количества FTI и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб; арглабин; перриловый спирт; SCH-66336; L778123; L739749; FTI-277; L744832; R208176; BMS 214662; AZD3409 или CP-609, 754. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

FTI может быть составлена в виде подходящих фармацевтических препаратов, таких как растворы, суспензии, таблетки, диспергируемые таблетки, пилюли, капсулы, порошки, составы с замедленным высвобождением или эликсиры, для перорального введения или в стерильных растворах или суспензиях для офтальмологического или парентерального введения, а также трансдермальный пластырь и ингаляторы сухого порошка. Обычно FTI формулируется в фармацевтические композиции с использованием методик и способов, хорошо известных в данной области (см., например, Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Seventh Edition 1999).

В композициях эффективные концентрации FTI и фармацевтически приемлемых солей смешивают с подходящим фармацевтическим носителем или наполнителем. В определенных вариантах осуществления концентрации FTI в композициях являются эффективными для доставки количества, при введении, которое лечит, предотвращает или ослабляет один или несколько симптомов и/или прогрессирование рака, включая гематологические раковые заболевания и солидные опухоли.

Композиции могут быть получены для однократного введения. Для получения композиции, массовую долю FTI растворяют, суспендируют, диспергируют или смешивают иным образом в выбранном носителе в эффективной концентрации, так что подвергнутое лечению состояние облегчается или улучшается. Фармацевтические носители или наполнители, подходящие для введения FTI, представленные в настоящем документе, включают любые такие носители, известные специалистам в данной области, которые подходят для конкретного способа введения.

Кроме того, FTI может быть сформулирован как единственный фармацевтически активный ингредиент в композиции или может быть объединен с другими активными ингредиентами. Липосомальные суспензии, включая липосомы направленного действия, такие как липосомы, нацеленные на опухоль, также могут быть пригодны в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Они могут быть получены в соответствии со способами, известными специалистам в данной области. Например, составы липосом могут быть получены, как известно в данной области. Вкратце, липосомы, такие как многослойные везикулы (MLV), могут быть получены путем высушивания яичного фосфатидилхолина и фосфатидилсерина мозга (мольное отношение 7:3) внутри колбы. Добавляют раствор FTI, представленный в настоящем документе, в фосфатно-солевом буфере, в котором отсутствуют двухвалентные катионы (PBS), и колбу встряхивают до тех пор, пока липидная пленка не диспергируется. Полученные везикулы промывают для удаления неинкапсулированного соединения, осаждают центрифугированием и затем ресуспендируют в PBS.

FTI включают в фармацевтически приемлемый носитель в количестве, достаточном для оказания терапевтически полезного эффекта при отсутствии нежелательных побочных эффектов на пациента, подвергаемого лечению. Терапевтически эффективную концентрацию можно определить эмпирически путем тестирования соединений в системах *in vitro* и *in vivo*, описанных в настоящем документе, а затем экстраполировать их для дозировок для людей.

Концентрация FTI в фармацевтической композиции будет зависеть от скоростей всасывания, распределения в тканях, инактивации и экскреции FTI, физико-химических характеристик FTI, схемы приема лекарственного средства и вводимого количества, а также других факторов, известных специалистам в данной области. Например, доставляемое количество является достаточным для ослабления одного или нескольких симптомов рака, включая гематопозитический рак и солидные опухоли.

В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективная доза должна обеспечивать концентрацию активного ингредиента в сыворотке от примерно 0,1 нг/мл до примерно 50-100 мкг/мл. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции обеспечивают дозировку от примерно 0,001 до примерно 2000 мг соединения на килограмм массы тела в день. Фармацевтические стандартные лекарственные формы получают для обеспечения от примерно 1 до примерно 1000 мг и в определенных вариантах осуществления от примерно 10 до примерно 500 мг основного активного ингредиента или комбинации основных ингредиентов на стандартную лекарственную форму.

FTI может вводиться за один раз или может быть разделен на несколько меньших доз, вводимых через определенные промежутки времени. Понятно, что точная дозировка и продолжительность лечения зависят от заболевания, подлежащего лечению, и могут быть определены эмпирически с использованием известных протоколов тестирования или путем экстраполяции из данных испытаний *in vivo* или *in vitro*. Следует отметить, что концентрации и значения доз также могут варьироваться в зависимости от тяжести состояния, подлежащего облегчению. Кроме того, следует понимать, что для любого конкретного субъекта конкретные режимы дозирования должны корректироваться с течением времени в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным суждением лица, которое вводит или контролирует введение композиций, и что диапазоны концентраций, изложенные в настоящем документе, представлены только для примера и не предназначены для ограничения объема или практики заявленных компо-

зиций.

Таким образом, эффективные концентрации или количества одного или нескольких соединений, описанных в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемых солей смешивают с подходящим фармацевтическим носителем или наполнителем для системного, локального или местного введения для образования фармацевтических композиций. Соединения включают в количестве, эффективном для облегчения одного или нескольких симптомов или для лечения, замедления прогрессирования или предотвращения. Концентрация активного соединения в фармацевтической композиции будет зависеть от скоростей всасывания, распределения в тканях, инактивации и экскреции активного соединения, схемы дозирования, вводимого количества, конкретного состава, а также других факторов, известных специалистам в данной области.

Композиции предназначены для введения подходящим путем, включая, но не ограничиваясь ими, пероральный, парентеральный, ректальный, местный и локальный. Для перорального введения могут быть получены капсулы и таблетки. Композиции находятся в жидкой, полужидкой или твердой форме и составлены способом, подходящим для каждого способа введения.

Растворы или суспензии, используемые для парентерального, внутрикожного, подкожного или местного применения, могут включать любой из следующих компонентов: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, нелетучее масло, полиэтиленгликоль, глицерин, пропиленгликоль, диметилацетамид или другие синтетические растворители; антимикробные агенты, такие как бензиловый спирт и метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота и бисульфит натрия; хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA); буферы, такие как ацетаты, цитраты и фосфаты; и средства, регулирующие тоничность, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральные препараты могут быть заключены в ампулы, ручки, одноразовые шприцы или флаконы с одной или несколькими дозами, изготовленные из стекла, пластика или другого подходящего материала.

В случаях, когда FTI проявляет недостаточную растворимость, могут быть использованы способы солюбилизации соединений. Такие способы известны специалистам в данной области и включают, но не ограничиваются ими, использование сорастворителей, таких как диметилсульфоксид (DMSO), использование поверхностно-активных веществ, таких как TWEEN®, или растворение в водном бикарбонате натрия.

После смешивания или добавления соединения(й) полученная смесь может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию или тому подобное. Форма получающейся в результате смеси зависит от ряда факторов, включая предполагаемый способ введения и растворимость соединения в выбранном носителе или растворителе. Эффективная концентрация достаточна для ослабления симптомов заболевания, расстройства или состояния, которое лечат, и может быть определена эмпирически.

Фармацевтические композиции предназначены для введения людям и животным в стандартных лекарственных формах, таких как таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы, стерильные парентеральные растворы или суспензии, а также пероральные растворы или суспензии в масляно-водной эмульсии, включающие подходящие количества соединений или их фармацевтически приемлемых солей. Фармацевтически терапевтически активные соединения и их соли составляют и вводят в единичных дозированных формах или множественных дозированных формах. Формы стандартных доз, используемые в настоящем описании, относятся к физически дискретным единицам, подходящим для людей и животных и упакованным индивидуально, как известно в данной области техники. Каждая стандартная доза включает заранее определенное количество терапевтически активного соединения, достаточное для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем, наполнителем или разбавителем. Примеры стандартных дозированных форм включают ампулы и шприцы и индивидуально упакованные таблетки или капсулы. Стандартные дозированные формы можно вводить в виде фракций или их множеств. Множественная дозированная форма представляет собой множество идентичных стандартных дозированных форм, упакованных в один контейнер для введения в отдельной стандартной дозированной форме. Примеры множественных дозированных форм включают флаконы, флаконы с таблетками или капсулами или сосуды с пинтами или галлонами. Следовательно, множественная дозированная форма представляет собой множество единичных доз, которые не разделены в упаковке.

Препараты с замедленным высвобождением также могут быть получены. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы твердых гидрофобных полимеров, содержащие представленное здесь соединение, где указанные матрицы имеют форму формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Примеры матриц длительного высвобождения включают пластыри для ионофореза, сложные полиэфиры, гидрогели (например, поли(2-гидроксиэтилметакрилат) или поливиниловый спирт), полилактиды, сополимеры L-глутаминовой кислоты и этил-L-глутамата, неразлагаемый этиленвинилацетат, разлагаемые сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, такие как LUPRON DEPOT™ (микросферы для инъекций, состоящие из сополимера молочной и гликолевой кислоты и ацетата лейпролида) и поли-D-(-)-3-гидроксимасляная кисло-

та. Хотя такие полимеры, как этиленвинилацетат и молочная кислота-гликолевая кислота, обеспечивают высвобождение молекул в течение более 100 дней, некоторые гидрогели обеспечивают высвобождение белков в течение более коротких периодов времени. Когда инкапсулированное соединение присутствует в организме в течение длительного времени, оно может денатурироваться или агрегироваться в результате воздействия влаги при 37°C, что приводит к потере биологической активности и к возможным изменениям в их структуре. Рациональные стратегии могут быть разработаны для стабилизации в зависимости от используемого механизма действия. Например, если обнаружено, что механизмом агрегации является образование межмолекулярной связи S-S посредством тиодисульфидного обмена, стабилизация может быть достигнута путем модификации сульфгидрильных остатков, лиофилизации из кислотных растворов, регулирования содержания влаги, использования соответствующих добавок и разработки конкретных композиций полимерных матриц.

Могут быть получены лекарственные формы или композиции, включающие активный ингредиент в диапазоне от 0,005 до 100% с остатком, состоящим из нетоксичного носителя. Для перорального введения фармацевтически приемлемую нетоксичную композицию получают путем включения любого из обычно используемых эксципиентов, таких как, например, фармацевтические категории маннита, лактозы, крахмала, стеарата магния, талька, производных целлюлозы, натрий-кроскармеллозы, глюкозы, сахарозы, карбоната магния или натриевого сахара. Такие композиции включают растворы, суспензии, таблетки, капсулы, порошки и составы с замедленным высвобождением, такие как, но не ограничиваясь ими, имплантаты и микроинкапсулированные системы доставки, а также биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как коллаген, этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, полиортоэфир, полимолочная кислота и другие. Способы получения этих композиций известны специалистам в данной области. Рассматриваемые композиции могут включать примерно 0,001% 100% активного ингредиента, в определенных вариантах осуществления примерно 0,1-85% или примерно 75-95%.

FTI или фармацевтически приемлемые соли могут быть получены с носителями, которые защищают соединение от быстрого выведения из организма, такими как составы или покрытия с замедленным высвобождением.

Композиции могут включать другие активные соединения для получения желаемых комбинаций свойств. Соединения, представленные в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемые соли, как описано в настоящем документе, также можно вводить вместе с другим фармакологическим средством, известным в общем уровне техники, которое представляет ценность для лечения одного или нескольких заболеваний или медицинских состояний, упомянутых выше, таких как заболевания, связанные с окислительным стрессом.

Композиции без лактозы, представленные в настоящем документе, могут включать эксципиенты, которые хорошо известны в данной области и перечислены, например, в U.S. Pharmacoporia (USP) SP (XXI)/NF (XVI). Как правило, безлактозные композиции включают активный ингредиент, связующее/наполнитель и скользящее вещество в фармацевтически совместимых и фармацевтически приемлемых количествах. Типичные безлактозные лекарственные формы включают активный ингредиент, микрокристаллическую целлюлозу, предварительно желатинизированный крахмал и стеарат магния.

Далее охватываются безводные фармацевтические композиции и лекарственные формы, включающие соединение, представленное в настоящем документе. Например, добавление воды (например, 5%) широко применяется в фармацевтике в качестве средств имитации длительного хранения для определения таких характеристик, как срок годности или стабильность составов во времени. См., например, Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80. На практике вода и тепло ускоряют разложение некоторых соединений. Таким образом, влияние воды на состав может иметь большое значение, так как влага и/или влажность обычно встречаются во время производства, обработки, упаковки, хранения, транспортировки и использования лекарственных форм.

Безводные фармацевтические композиции и лекарственные формы, представленные в настоящем документе, могут быть получены с использованием безводных ингредиентов или ингредиентов с низким содержанием влаги и в условиях низкой влажности или низкого содержания влаги. Фармацевтические композиции и лекарственные формы, которые включают лактозу и по меньшей мере один активный ингредиент, который включает первичный или вторичный амин, являются безводными, если ожидается значительный контакт с влагой и/или влажностью во время производства, упаковки и/или хранения.

Безводную фармацевтическую композицию следует получать и хранить таким образом, чтобы сохранялась ее безводная природа. Соответственно, безводные композиции упаковывают с использованием материалов, которые, как известно, предохраняют от воздействия воды, так что они могут быть включены в подходящие наборы. Примеры подходящей упаковки включают, но не ограничиваются ими, герметично запечатанные упаковки из фольги, пластмассы, контейнеры для разовой дозы (например, ампулы), блистерные упаковки и контурные упаковки.

Пероральные фармацевтические лекарственные формы являются твердыми, гелевыми или жидкими. Твердые лекарственные формы представляют собой таблетки, капсулы, гранулы и сыпучие порошки. Типы пероральных таблеток включают прессованные, жевательные пастилки и таблетки, которые могут быть покрыты энтеросолюбильной оболочкой, сахарной оболочкой или пленкой. Капсулы могут быть

твердыми или мягкими желатиновыми капсулами, в то время как гранулы и порошки могут быть предоставлены в не шипучей или шипучей форме в сочетании с другими ингредиентами, известными специалистами в данной области.

В определенных вариантах осуществления лекарственные формы представляют собой твердые лекарственные формы, такие как капсулы или таблетки. Таблетки, пилюли, капсулы, троше и тому подобное могут включать любой из следующих ингредиентов или соединений аналогичной природы: связующее вещество; разбавитель; дезинтегрирующий агент; скользящее вещество; глидант; подсластитель и ароматизатор.

Примеры связующих включают микрокристаллическую целлюлозу, трагакантовую камедь, раствор глюкозы, экстракт слизи акации, раствор желатина, сахарозу и крахмальную пасту. Скользящие вещества включают тальк, крахмал, стеарат магния или кальция, ликоподий и стеариновую кислоту. Разбавители включают, например, лактозу, сахарозу, крахмал, каолин, соль, маннит и дикальцийфосфат. Глиданты включают, но не ограничиваются ими, коллоидный диоксид кремния. Дезинтегрирующие агенты включают кроскармеллозу натрия, натрий крахмал гликолят, альгиновую кислоту, кукурузный крахмал, картофельный крахмал, бентонит, метилцеллюлозу, агар и карбоксиметилцеллюлозу. Красители включают, например, любой из утвержденных сертифицированных водорастворимых красителей FD и C, их смеси; и водонерастворимые красители FD и C, суспендированные на гидрате оксида алюминия. Подсластители включают сахарозу, лактозу, маннит и искусственные подсластители, такие как сахарин, и любое количество ароматизаторов, высушенных распылением. Ароматизаторы включают натуральные ароматизаторы, экстрагируемые из растений, таких как фрукты и синтетические смеси соединений, которые вызывают приятные ощущения, такие как, но не ограничиваясь, мята перечная и метилсалицилат. Смачивающие агенты включают моностеарат пропиленгликоля, моноолеат сорбитана, монолаурат диэтиленгликоля и полиоксиэтиленлауриловый эфир. Противорвотные покрытия включают жирные кислоты, жиры, воски, шеллак, аммонизированный шеллак и целлюлозы ацетат фталаты. Пленочные покрытия включают гидроксиэтилцеллюлозу, натрий карбоксиметилцеллюлозу, полиэтиленгликоль 4000 и ацетатфталат целлюлозы.

Когда стандартная лекарственная форма представляет собой капсулу, она может включать, помимо вещества вышеуказанного типа, жидкий носитель, такой как жирное масло. Кроме того, стандартные лекарственные формы могут содержать различные другие материалы, которые модифицируют физическую форму стандартной дозы, например, покрытия из сахара и других энтеросолубильных агентов. Соединения также можно вводить в качестве компонента эликсира, суспензии, сиропа, облатки, разбрызгиваемой жидкости, жевательной резинки или тому подобное. Сироп может содержать помимо активных соединений сахарозу в качестве подсластителя и некоторые консерванты, красители, корригенты и ароматизаторы.

Фармацевтически приемлемые носители, включенные в таблетки, представляют собой связующие вещества, скользящие вещества, разбавители, дезинтегрирующие агенты, красители, ароматизаторы и смачивающие агенты. Таблетки с энтеросолубильным покрытием благодаря энтеросолубильному покрытию противостоят действию желудочной кислоты и растворяются или распадаются в нейтральном или щелочном кишечнике. Таблетки с сахарным покрытием представляют собой прессованные таблетки, на которые наносят различные слои фармацевтически приемлемых веществ. Таблетки с пленочным покрытием представляют собой прессованные таблетки, которые покрыты полимером или другим подходящим покрытием. Многократно прессованные таблетки представляют собой прессованные таблетки, изготовленные более чем одним циклом прессования с использованием фармацевтически приемлемых веществ, упомянутых ранее. Красители также могут быть использованы в указанных выше лекарственных формах. Ароматизаторы и подсластители используются в прессованных таблетках, покрытых сахаром, многократно прессованных и жевательных таблетках. Ароматизаторы и подсластители особенно полезны при образовании жевательных таблеток и пастилок.

Жидкие пероральные лекарственные формы включают водные растворы, эмульсии, суспензии, растворы и/или суспензии, полученные из нешипучих гранул, и шипучие препараты, полученные из шипучих гранул. Водные растворы включают, например, эликсиры и сиропы. Эмульсии представляют собой или масло-в-воде или вода-в-масле.

Эликсиры представляют собой прозрачные, подслащенные, водноспиртовые препараты. Фармацевтически приемлемые носители, используемые в эликсирах, включают растворители. Сиропы представляют собой концентрированные водные растворы сахара, например, сахарозы, и могут включать консервант. Эмульсия представляет собой двухфазную систему, в которой одна жидкость диспергирована в форме маленьких шариков в другой жидкости. Фармацевтически приемлемые носители, используемые в эмульсиях, представляют собой неводные жидкости, эмульгирующие агенты и консерванты. Суспензии используют фармацевтически приемлемые суспендирующие агенты и консерванты. Фармацевтически приемлемые вещества, используемые в нешипучих гранулах для восстановления в жидкую пероральную лекарственную форму, включают разбавители, подсластители и смачивающие агенты. Фармацевтически приемлемые вещества, используемые в шипучих гранулах для восстановления в жидкую пероральную лекарственную форму, включают органические кислоты и источник углекислого газа. Красители и аро-

матизаторы используют во всех вышеперечисленных лекарственных формах.

Растворители включают глицерин, сорбит, этиловый спирт и сироп. Примеры консервантов включают глицерин, метил и пропилпарабен, бензойную кислоту, бензоат натрия и спирт. Примеры неводных жидкостей, используемых в эмульсиях, включают минеральное масло и хлопковое масло. Примеры эмульгирующих агентов включают желатин, акацию, трагакант, бентонит и поверхностно-активные вещества, такие как полиоксиэтилен сорбитанмоноолеат. Суспендирующие агенты включают натрий карбоксиметилцеллюлозу, пектин, трагакант, вигум и акацию. Разбавители включают лактозу и сахарозу. Подсластители включают сахарозу, сиропы, глицерин и искусственные подсластители, такие как сахарин. Смачивающие агенты включают моностеарат пропиленгликоля, моноолеат сорбитана, монолаурат диэтиленгликоля и полиоксиэтиленлауриловый эфир. Органические добавки включают лимонную и винную кислоты. Источники диоксида углерода включают бикарбонат натрия и карбонат натрия. Красители включают любой из утвержденных сертифицированных водорастворимых красителей FD и C и их смеси. Ароматизаторы включают натуральные ароматизаторы, экстрагируемые из растений, таких как фрукты, и синтетические смеси соединений, которые вызывают приятные вкусовые ощущения.

Твердую лекарственную форму, раствор или суспензию, например, в пропиленкарбонате, растительных маслах или триглицеридах, инкапсулируют в желатиновую капсулу. Такие растворы, и их получение и инкапсулирование раскрыты в патентах США № 4328245; 4409239 и 4410545. Для жидкой лекарственной формы раствор, например, в полиэтиленгликоле, может быть разбавлен достаточным количеством фармацевтически приемлемого жидкого носителя, например водой, для облегчения нормирования при введении.

Альтернативно, жидкие или полутвердые пероральные композиции могут быть получены путем растворения или диспергирования активного соединения или соли в растительных маслах, гликолях, триглицеридах, сложных эфирах пропиленгликоля (например, пропиленкарбонате) и других таких носителях и инкапсулированием этих растворов или суспензий в желатиновые капсулы с твердыми или мягкими оболочками. Другие используемые композиции включают, но не ограничиваются ими, те, которые включают соединение, представленное в настоящем документе, диалкилированный моно- или полиалкиленгликоль, включая, но не ограничиваясь этим, 1,2-диметоксиметан, диглим, триглим, тетраглим, полиэтиленгликоль-350-диметиловый эфир, полиэтиленгликоль-550-диметиловый эфир, полиэтиленгликоль-750-диметиловый эфир, где 350, 550 и 750 относятся к приблизительной средней молекулярной массе полиэтиленгликоля и одного или нескольких антиоксидантов, таких как бутилированный гидрокситолуол (БНТ), бутилированный гидроксианизол (БНА), пропилгаллат, витамин Е, гидрохинон, гидроксикумарины, этаноламин, лецитин, кефалин, аскорбиновая кислота, яблочная кислота, сорбит, фосфорная кислота, тиодипропионовая кислота и ее сложные эфиры и дитиокарбаматы.

Другие композиции включают, но не ограничиваются ими, водно-спиртовые растворы, включая фармацевтически приемлемый ацеталь. Спирты, используемые в этих композициях, представляют собой любые фармацевтически приемлемые смешивающиеся с водой растворители, включающие одну или несколько гидроксильных групп, включая, но не ограничиваясь этим, пропиленгликоль и этанол. Ацетали включают, но не ограничиваются ими, ди(нижний алкил)ацетали нижних алкиловых альдегидов, такие как диэтиловый ацеталь ацетальдегида.

Во всех вариантах осуществления составы таблеток и капсул могут быть покрыты оболочкой, как известно специалистам в данной области техники, для модификации или поддержания растворения активного ингредиента. Так, например, они могут быть покрыты обычным энтеросолюбильным покрытием, таким как фенилсалицилат, воски и целлюлоза ацетат фталат.

Парентеральное введение, обычно характеризующееся инъекцией, подкожно, внутримышечно или внутривенно, также предусмотрено в настоящем документе. Инъекционные препараты могут быть приготовлены в обычных формах, либо в виде жидких растворов или суспензий, твердых форм, пригодных для раствора или суспензии в жидкости перед инъекцией, либо в виде эмульсий. Подходящими эксципиентами являются, например, вода, физиологический раствор, декстроза, глицерин или этанол. Кроме того, при желании, фармацевтические композиции для введения могут также включать незначительные количества нетоксичных вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие агенты, pH-буферные агенты, стабилизаторы, усилители растворимости и другие такие агенты, как, например, ацетат натрия, сорбитанмонолаурат, триэтаноламин олеат и циклодекстрины. В настоящем описании также рассматривается имплантация системы с медленным высвобождением или с замедленным высвобождением, которая поддерживает постоянный уровень дозы.

Вкратце, соединение по настоящему изобретению диспергируют в твердой внутренней матрице, например полиметилметакрилате, полибутилметакрилате, пластифицированном или непластифицированном поливинилхлориде, пластифицированном нейлоне, пластифицированном полиэтилентерефталате, природном каучуке, полиизопрене, полиизобутилене, полибутадиене, полиэтилене, сополимерах этилена и винилацетата, силиконовых каучуках, полидиметилсилоксанах, сополимерах силикона и карбоната, гидрофильных полимерах, таких, как гидрогели сложных эфиров акриловой и метакриловой кислот, коллагене, сшитом поливинилом спирте и сшитом частично гидролизованном поливинилацетате, которая окружена наружной полимерной оболочкой, например, из полиэтилена, полипропилена, сополиме-

ров этилена и пропилена, сополимеров этилена и этилакрилата, сополимеров этилена и винилацетата, силиконовых каучуков, полидиметилсилоксанов, неопренового каучука, хлорированного полиэтилена, поливинилхлорида, сополимеров винилхлорида и винилацетата, винилиденхлорида, этилена и пропилена, иономерного полиэтилентерефталата, бутилкаучука, эпихлоргидриновых каучуков, сополимера этилена и винилового спирта, терполимера этилена, винилацетата и винилового спирта и сополимера этилена и винилоксиэтанола, которая нерастворима в жидкостях организма. Соединение диффундирует через наружную полимерную оболочку на стадии регулирования скорости высвобождения. Процентное содержание активного соединения в такой парентеральной композиции в значительной степени зависит от его конкретной природы, а также от активности соединения и потребностей субъекта.

Парентеральное введение композиций включает внутривенное, подкожное и внутримышечное введения. Препараты для парентерального введения включают стерильные растворы, готовые для инъекций, стерильные сухие растворимые продукты, такие как лиофилизированные порошки, готовые к объединению с растворителем непосредственно перед использованием, включая таблетки для подкожных инъекций, стерильные суспензии, готовые для инъекций, стерильные сухие нерастворимые продукты, готовые для комбинирования с носителем непосредственно перед применением, и стерильные эмульсии. Растворы могут быть водными или неводными.

При внутривенном введении подходящие носители включают физиологический солевой раствор или фосфатно-солевой буферный раствор (PBS) и растворы, содержащие загущающие и солюбилизирующие агенты, такие как глюкоза, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль и их смеси.

Фармацевтически приемлемые носители, используемые в парентеральных препаратах, включают водные носители, неводные носители, противомикробные агенты, изотонические агенты, буферы, антиоксиданты, местно-анестезирующие средства, суспендирующие и диспергирующие агенты, эмульгирующие агенты, секвестранты или хелатирующие агенты и другие фармацевтически приемлемые вещества.

Примеры водного носителя включают раствор натрия хлорида для инъекций, раствор Рингера для инъекций, изотонический раствор декстрозы для инъекций, стерильную воду для инъекций, раствор декстрозы и раствор Рингера с лактатом для инъекций. Неводный парентеральный носитель включает нелетучие масла растительного происхождения, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и арахисовое масло. Противомикробные агенты в бактериостатических или фунгистатических концентрациях должны быть добавлены в парентеральные препараты, упакованные в многодозовые контейнеры, которые включают фенолы или крезолы, соединения ртути, бензиловый спирт, хлорбутанол, метиловый и пропиловый эфиры п-гидроксibenзойной кислоты, тимеросал, бензалкония хлорид и бензэтония хлорид. Изотонические агенты включают натрия хлорид и декстрозу. Буферные вещества включают фосфат и цитрат. Антиоксиданты включают натрия бисульфит. Местноанестезирующие средства включают прокаина гидрохлорид. Суспендирующие и диспергирующие агенты включают натрий карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Эмульгаторы включают полисорбат 80 (TWEEN® 80). Секвестрант или хелатирующий агент для ионов металла включают EDTA. Фармацевтические носители также включают этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешиваемых с водой носителей и гидроксид натрия, соляную кислоту, лимонную кислоту или молочную кислоту для корректировки pH.

Концентрация FTI регулируется таким образом, чтобы инъекция обеспечивала эффективное количество для получения желаемого фармакологического эффекта. Точная доза зависит от возраста, массы и состояния пациента или животного, как известно в данной области. Единица дозы парентеральных препаратов упаковывают в ампулу, флакон или шприц с иглой. Все препараты для парентерального введения должны быть стерильными, как это известно и практикуется в данной области.

Для иллюстрации, внутривенная или внутриаrтериальная инфузия стерильного водного раствора, содержащего FTI, представляет собой эффективный способ введения. Другим вариантом осуществления является стерильный водный или масляный раствор или суспензия, содержащая активное вещество, вводимый по мере необходимости для получения желаемого фармакологического эффекта.

Инъекционные препараты предназначены для локального и системного применения. Как правило, терапевтически эффективная доза составляется таким образом, чтобы она содержала концентрацию, по меньшей мере, от примерно 0,1 до примерно 90 мас./мас.% или более, например более 1 мас./мас.% активного соединения на обработанную ткань(и). Активный ингредиент может быть введен за один раз или может быть разделен на несколько меньших доз, вводимых через определенные промежутки времени. Понятно, что точная дозировка и продолжительность лечения зависят от ткани, подлежащей лечению, и могут быть определены эмпирически с использованием известных протоколов тестирования или путем экстраполяции из данных испытаний *in vivo* или *in vitro*. Следует отметить, что концентрации и значения доз также могут варьироваться в зависимости от возраста индивидуума, подлежащего облегчению. Кроме того, следует понимать, что для любого конкретного субъекта конкретные режимы дозирования должны корректироваться с течением времени в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным суждением лица, которое вводит или контролирует введение композиций, и что диапазоны концентраций, изложенные в настоящем документе, представлены только для примера и не предна-

значены для ограничения объема или практики заявленных композиций.

FTI может быть суспендирован в микронизированной или другой подходящей форме или может быть дериватизирован для получения более растворимого активного продукта или для получения пролекарства. Форма получающейся в результате смеси зависит от ряда факторов, включая предполагаемый способ введения и растворимость соединения в выбранном носителе или растворителе. Эффективная концентрация достаточна для ослабления симптомов состояния и может быть определена эмпирически.

Интерес представляют также лиофилизированные порошки, которые можно восстанавливать для введения в виде растворов, эмульсий и других смесей. Они также могут быть восстановлены и сформулированы в виде твердых веществ или гелей.

Стерильный лиофилизированный порошок получают путем растворения FTI, представленного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, в подходящем растворителе. Растворитель может включать наполнитель, который улучшает стабильность, или другой фармакологический компонент порошка или восстановленного раствора, полученного из порошка. Эксципиенты, которые могут быть использованы, включают, но не ограничиваются ими, декстрозу, сорбитал, фруктозу, кукурузный сироп, ксилит, глицерин, глюкозу, сахарозу или другой подходящий агент. Растворитель также может содержать буфер, такой как цитрат, натрия или калия фосфат, или другой такой буфер, известный специалистам в данной области техники, в одном варианте осуществления с приблизительно нейтральным pH. Последующая стерильная фильтрация раствора с последующей лиофилизацией в стандартных условиях, известных специалистам в данной области, обеспечивает получение желаемой композиции. Как правило, полученный раствор распределяют во флаконы для лиофилизации. Каждый флакон будет содержать одну дозу (включая, но не ограничиваясь этим, 10-1000 мг или 100-500 мг) или несколько доз соединения. Лيوфилизированный порошок может храниться в соответствующих условиях, например, при температуре примерно 4°C до комнатной температуры.

Восстановление этого лиофилизированного порошка водой для инъекций обеспечивает композицию для применения при парентеральном введении. Для восстановления добавляют примерно 1-50 мг, примерно 5-35 мг или примерно 9-30 мг лиофилизированного порошка на мл стерильной воды или другого подходящего носителя. Точное количество зависит от выбранного соединения. Такое количество может быть определено эмпирически.

Смеси для местного применения получают, как описано для локального и системного введения. Полученная смесь может представлять собой раствор, суспензию, эмульсии и тому подобное и может быть изготовлена в форме кремов, гелей, мазей, эмульсий, растворов, эликсиров, лосьонов, суспензий, настоек, паст, пен, аэрозолей, оросителей, спреев, суппозиториях, повязок, наклеиваемых пластырей или любых других лекарственных форм, подходящих для местного введения.

FTI или фармацевтическая композиция, включающая FTI, может быть составлена в виде аэрозолей для местного введения, например, путем ингаляции (см., например, патенты США № 4044126, 4414209 и 4364923, где описаны аэрозоли для доставки стероида, полезного для лечения воспалительных болезней, в частности, астмы). Эти композиции для введения в дыхательные пути могут быть в форме аэрозоля или раствора для небулайзера или в виде мелкодисперсного порошка для инсуффляции, отдельно или в комбинации с инертным носителем, таким как лактоза. В данном случае частицы препарата будут иметь диаметр менее 50 мкм или менее 10 мкм.

FTI или фармацевтическая композиция, включающая FTI, может быть получена для локального или местного применения, такого как местное нанесение на кожу и слизистые оболочки, такие как в глазу, в виде гелей, кремов и лосьонов и для введения в глаз или для интракостерального или интраспинального введения. Местное введение предназначено для трансдермальной доставки, а также для введения в глаз или слизистую оболочку или для ингаляционных терапий. Также можно вводить назальные растворы активного соединения отдельно или в комбинации с другими фармацевтически приемлемыми эксципиентами. Эти растворы, в частности те, которые предназначены для офтальмологического применения, могут быть получены в виде 0,01-10% изотонических растворов, pH около 5-7, с соответствующими солями.

Другие пути введения, такие как трансдермальные пластыри и ректальное введение, также рассматриваются в настоящем описании. Например, фармацевтические лекарственные формы для ректального введения представляют собой ректальные суппозитории, капсулы и таблетки для системного эффекта. Ректальные суппозитории, используемые в настоящем описании, означают твердые тела для введения в прямую кишку, которые плавятся или размягчаются при температуре тела, высвобождая один или несколько фармакологически или терапевтически активных ингредиентов. Фармацевтически приемлемые вещества, используемые в ректальных суппозиториях, представляют собой основы или наполнители и вещества для повышения температуры плавления. Примеры основ включают масло какао (теобромовое масло), глицерин-желатин, карбовакс (полиоксиэтиленгликоль) и подходящие смеси моно-, ди- и триглицеридов жирных кислот. Могут быть использованы комбинации из разных основ. Вещества для повышения температуры плавления суппозиториях включают спермацет и воск. Ректальные суппозитории могут быть получены методом прессования или формованием. Обычная масса ректального суппозитория составляет примерно 2-3 г. Таблетки и капсулы для ректального введения получают, используя такие же

самые фармацевтически приемлемые вещества и такие же самые способы, как для изготовления лекарственных форм для перорального введения.

FTI или фармацевтическую композицию, включающую FTI, предоставленную в настоящем документе, можно вводить с помощью средств с контролируемым высвобождением или с помощью устройств доставки, которые хорошо известны специалистам в данной области. Примеры включают, но не ограничиваются ими, описанные в патентах США №№ 3845770; 3916899; 3536809; 3598123; и 4008719, 5674533, 5059595, 5591767, 5120548, 5073543, 5639476, 5354556, 5639480, 5733566, 5739108, 5891474, 5922356, 5,972,891, 5980945, 5993855, 6045830, 6087324, 6113943, 6197350, 6248363, 6264970, 6267981, 6376461, 6419961, 6589548, 6613358, 6699500 и 6740634, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки. Такие лекарственные формы могут быть использованы для обеспечения медленного или контролируемого высвобождения FTI с использованием, например, гидропропилметилцеллюлозы, других полимерных матриц, гелей, проницаемых мембран, осмотических систем, многослойных покрытий, микрочастиц, липосом, микросфер или их комбинации для обеспечения желаемого профиля высвобождения в различных пропорциях. Подходящие лекарственные формы с контролируемым высвобождением, известные специалистам в данной области техники, включая описанные в настоящем документе, могут быть легко выбраны для использования с активными ингредиентами, представленными в настоящем документе.

Все фармацевтические продукты с контролируемым высвобождением имеют общую цель улучшения лечения лекарственными средствами по сравнению с тем, что достигается их аналогами с неконтролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления использование оптимально разработанного препарата с контролируемым высвобождением в лечении характеризуется минимальным количеством лекарственного вещества, применяемого для лечения или контроля состояния в минимальное количество времени. В определенных вариантах осуществления преимущества лекарственных средств с контролируемым высвобождением включают расширенную активность лекарственного средства, уменьшенную кратность доз и повышенную комплаентность. Кроме того, лекарственные средства с контролируемым высвобождением могут использоваться для воздействия на время начала действия или другие характеристики, такие как уровень лекарственного средства в крови, и, таким образом, могут влиять на возникновение побочных (например, нежелательных) действий.

Большинство составов с контролируемым высвобождением предназначены для первоначального высвобождения количества лекарственного средства (активного ингредиента), которое быстро дает желаемый терапевтический эффект, и постепенного и непрерывного высвобождения других количеств лекарственного средства для поддержания этого уровня терапевтического эффекта в течение продолжительного периода времени. Для того чтобы поддерживать этот постоянный уровень лекарственного средства в организме, лекарственное средство должно высвобождаться из лекарственной формы со скоростью, которая заменит количество лекарственного средства, которая будет замещать количество лекарственного средства, которое метаболизируется и выводится из организма. Контролируемое высвобождение активного ингредиента может стимулироваться различными условиями, включая, но не ограничиваясь этим, pH, температуру, ферменты, воду или другие физиологические условия или соединения.

В определенных вариантах осуществления FTI можно вводить с использованием внутривенной инфузии, имплантируемого осмотического насоса, трансдермального пластыря, липосом или других способов введения. В одном варианте осуществления может использоваться насос (см., Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)). В другом варианте могут быть использованы полимерные материалы. В еще одном варианте осуществления система с контролируемым высвобождением может быть помещена в непосредственной близости от терапевтической мишени, то есть, таким образом, что делает необходимой только часть системной дозы (см., например, Goodson, Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115-138 (1984)).

В некоторых вариантах осуществления устройство с контролируемым высвобождением вводят субъекту вблизи места неподходящей иммунной активации или опухоли. Другие системы с контролируемым высвобождением описываются в обзоре Langer (Science 249:1527-1533 (1990)). F может быть диспергирован в твердой внутренней матрице, например, полиметилметакрилате, полибутилметакрилате, пластифицированном или непластифицированном поливинилхлориде, пластифицированном нейлоне, пластифицированном полиэтилентерефталате, природном каучуке, полиизопрене, полиизобутилене, полибутадиене, полиэтилене, сополимерах этилена и винилацетата, силиконовых каучуках, полидиметилсилоксанах, сополимерах силикона и карбоната, гидрофильных полимерах, таких как гидрогели сложных эфиров акриловой и метакриловой кислот, коллагене, сшитом поливинилом спирте и сшитом частично гидролизованном поливинилацетате, которая окружена наружной полимерной оболочкой, например, из полиэтилена, полипропилена, сополимеров этилена и пропилена, сополимеров этилена и этилакрилата, сополимеров этилена и винилацетата, силиконовых каучуков, полидиметилсилоксанов, неопренового каучука, хлорированного полиэтилена, поливинилхлорида, сополимеров винилхлорида и винилацетата, винилиденхлорида, этилена и пропилена, иономерного полиэтилентерефталата, бутилкаучука, эпихлоргидриновых каучуков, сополимера этилена и винилового спирта, терполимера этилена, винилацетата и

винилового спирта и сополимера этилена и винилоксиэтанола, которая нерастворима в жидкостях организма. Затем активный ингредиент диффундирует через наружную полимерную оболочку на стадии регулирования скорости высвобождения. Процентное содержание активного ингредиента в таких парентеральных композициях в значительной степени зависит от его конкретной природы, а также от потребностей субъекта.

FTI или фармацевтическая композиция FTI может быть упакована в виде готовых изделий, включающих упаковочный материал, соединение или его фармацевтически приемлемую соль, предоставленные в настоящем документе, которые используются для лечения, профилактики или ослабления одного или нескольких симптомов или прогрессирования рака, включая гематологические раковые заболевания и солидные опухоли, и этикетку, которая указывает, что соединение или его фармацевтически приемлемая соль используется для лечения, профилактики или ослабления одного или нескольких симптомов или прогрессирования рака, включая гематологические раковые заболевания и солидные опухоли.

Изделия, представленные в настоящем описании, включают упаковочные материалы. Упаковочные материалы для использования в упаковке фармацевтических продуктов хорошо известны специалистам в данной области. См., например, патенты США №№ 5323907, 5052558 и 5033252. Примеры фармацевтических упаковочных материалов включают, но не ограничиваются ими, блистерные упаковки, флаконы, пробирки, ингаляторы, насосы, пакеты, ампулы, контейнеры, шприцы, ручки, флаконы и любой упаковочный материал, подходящий для выбранной лекарственной формы и предполагаемого способа введения и лечение. Предусматривается широкий спектр лекарственных форм соединений и композиций, представленных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции, включающей FTI, вводят перорально или парентерально. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, включающую типифарниб в качестве активного ингредиента, вводят перорально в количестве от 1 до 1500 мг/кг в день, либо в виде разовой дозы, либо разделенной на более чем одну дозу или, более конкретно, в количестве от 10 до 1200 мг/кг в день. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, включающую типифарниб в качестве активного ингредиента, вводят перорально в количестве 100 мг/кг в день, 200 мг/кг в день, 300 мг/кг в день, 400 мг/кг в день, 500 мг/кг в день, 600 мг/кг в день, 700 мг/кг в день, 800 мг/кг в день, 900 мг/кг в день, 1000 мг/кг в день, 1100 мг/кг в день или 1200 мг/кг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 200-1500 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 200-1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 300 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 400 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 500 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 600 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 700 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 800 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 900 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1000 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1100 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 975, 1000, 1025, 1050, 1075, 1100, 1125, 1150, 1175 или 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1300 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1400 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FTI представляет собой типифарниб.

В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 200-1400 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 300-1200 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 300-900 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 600 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 700 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 800 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 900 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1000 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1100 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 1200 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в дозе 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 975, 1000, 1025, 1050, 1075, 1100, 1125, 1150, 1175 или 1200 мг два раза в день. В некоторых вариантах осуществления FTI для использования в композициях и способах, представленных в настоящем документе, представляет собой типифарниб.

Как понятно специалисту в данной области, дозировка варьируется в зависимости от используемой лекарственной формы, состояния и чувствительности пациента, пути введения и других факторов. Точная доза будет определяться практикующим врачом в свете факторов, связанных с субъектом, который требует лечения. Дозировка и введение корректируются для обеспечения достаточных уровней активного ингредиента или для поддержания желаемого эффекта. Факторы, которые могут быть приняты во

внимание, включают тяжесть состояния заболевания, общее состояние здоровья субъекта, возраст, массу и пол субъекта, диету, время и частоту введения, комбинацию(и) лекарственных средств, аллергическую реакцию и переносимость/ответ на терапию. Во время цикла лечения суточная доза может варьироваться. В некоторых вариантах осуществления начальную дозу можно снижать в течение цикла лечения. В некоторых вариантах осуществления начальную дозу можно повышать в течение цикла лечения. Окончательная доза может зависеть от возникновения токсичности, ограничивающей дозу, и других факторов. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 300 мг в день и увеличивают до максимальной дозы 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 или 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 400 мг в день и увеличивают до максимальной дозы 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 или 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 500 мг в день и увеличивают до максимальной дозы 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 или 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 600 мг в день и увеличивают до максимальной дозы 700, 800, 900, 1000, 1100 или 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 700 мг в день и увеличивают до максимальной дозы 800, 900, 1000, 1100 или 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 800 мг в день и увеличивают до максимальной дозы 900 мг, 1000 мг, 1100 мг или 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 900 мг в день и увеличивают до максимальной дозы 1000, 1100 или 1200 мг в день. Повышение дозы может быть сделано разом или пошагово. Например, начальная доза в 600 мг в день может быть увеличена до конечной дозы 1000 мг в день путем увеличения на 100 мг в день в течение 4 дней или путем увеличения на 200 мг в день в течение 2 дней или путем увеличения на 400 мг за один раз. В некоторых вариантах осуществления FТИ представляет собой типифарниб.

В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в относительно высокой начальной дозе и понижают до более низкой дозы в зависимости от реакции пациента и других факторов. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 1200 мг в день и снижают до конечной дозы 1100, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400 или 300 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 1100 мг в день и снижают до конечной дозы 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400 или 300 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 1000 мг в день и снижают до конечной дозы 900, 800, 700, 600, 500, 400 или 300 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 900 мг в день и снижают до конечной дозы 800, 700, 600, 500, 400 или 300 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 800 мг в день и снижают до конечной дозы 700, 600, 500, 400 или 300 мг в день. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в начальной дозе 600 мг в день и снижают до конечной дозы 500, 400 или 300 мг в день. Снижение дозы может быть сделано разом или пошагово. В некоторых вариантах осуществления FТИ представляет собой типифарниб. Например, начальная доза в 900 мг в день может быть снижена до конечной дозы 600 мг в день путем снижения на 100 мг в день в течение 3 дней или путем уменьшения на 300 мг разом.

Курс лечения может иметь различную продолжительность. В некоторых вариантах осуществления курс лечения может составлять одну неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах осуществления курс лечения составляет 4 недели. Курс лечения может иметь прерывистый график. В некоторых вариантах осуществления 2-недельный курс лечения может включать 5-дневное дозирование с последующим 9-дневным отдыхом. В некоторых вариантах осуществления 2-недельный курс лечения может включать 6-дневное дозирование с последующим 8-дневным отдыхом. В некоторых вариантах осуществления 2-недельный курс лечения может включать 7-дневное дозирование с последующим 7-дневным отдыхом. В некоторых вариантах осуществления 2-недельный курс лечения может включать 8-дневное дозирование с последующим 6-дневным отдыхом. В некоторых вариантах осуществления 2-недельный курс лечения может включать 9-дневное дозирование с последующим 5-дневным отдыхом.

В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят ежедневно в течение 3 из 4 недель в повторяющихся 4-недельных циклах. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят ежедневно, чередуя введение чере неделю (одна неделя вводят, одна неделя не вводят) в повторяющихся 4-недельных циклах. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в дозе 300 мг два раза в день перорально в течение 3 из 4 недель в повторяющихся 4-недельных циклах. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в дозе 600 мг два раза в день перорально в течение 3 из 4 недель в повторяющихся 4-недельных циклах. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в дозе 900 мг два раза в день перорально, чередуя введение чере неделю (одна неделя вводят, одна неделя не вводят) в повторяющихся 4-недельных циклах. В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в дозе 1200 мг два раза в день перорально, чередуя введение чере неделю (дни 1-7 и 15-21 повторных 28-дневных циклов). В некоторых вариантах осуществления FТИ вводят в дозе 1200 мг два раза в день перорально в течение дней 1-5 и 15-19 из повторяющихся 28-дневных циклов.

В некоторых вариантах осуществления может быть использован альтернативный недельный режим приема типифарниба в дозе 900 мг два раза в день. В соответствии с этой схемой пациенты получают

начальную дозу 900 мг перорально в день 1-7 и 15-21 в 28-дневных циклах лечения. При отсутствии не поддающейся лечению токсичности субъекты могут продолжать получать лечение типифарнибом до 12 месяцев. Дозу также можно увеличить до 1200 мг два раза в день, если субъект хорошо переносит лечение. Постепенное снижение дозы на 300 мг для контроля связанных с лечением возникающих при лечении токсичностей также может быть включено.

В некоторых других вариантах осуществления типифарниб вводят перорально в дозе 300 мг два раза в день ежедневно в течение 21 дня, после чего следует 1 неделя отдыха, в 28-дневных циклах лечения (21-дневный график; Cheng DT, et al., *J Mol Diagn.* (2015) 17(3): 251-64). В некоторых вариантах осуществления принимается 5-дневное дозирование в диапазоне от 25 до 1300 мг два раза в день с последующим 9-дневным отдыхом (5-дневный график; Zujewski J., *J Clin Oncol.*, (2000) Feb;18(4):927-41). В некоторых вариантах осуществления принимается 7-дневное дозирование два раза в день ежедневно с последующим 7-дневным отдыхом (7-дневный график; Lara PN Jr., *Anticancer Drugs.*, (2005) 16(3):317-21; Kirschbaum MH, *Leukemia.*, (2011) Oct;25(10):1543-7). В 7-дневном графике пациенты могут получать начальную дозу 300 мг два раза в день с увеличением дозы 300 мг до максимальной запланированной дозы 1800 мг два раза в день. В исследовании с 7-дневным графиком пациенты могут также получать типифарниб в дни 1-7 и дни 15-21 28-дневного цикла в дозах до 1600 мг два раза в день.

В предыдущих исследованиях было показано, что FTI ингибирует рост опухолей млекопитающих при введении в виде схемы дозирования два раза в день. Было обнаружено, что введение FTI в однократной дозе ежедневно в течение от одного до пяти дней приводило к заметному подавлению роста опухоли, продолжающемуся по меньшей мере до 21 дня. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят в диапазоне доз 50-400 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят при 200 мг/кг. Режим дозирования для определенных FTI также хорошо известен в данной области (например, патент США № 6838467, который включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме). Например, подходящие дозировки для соединений арглабин (WO 98/28303), перрилового спирта (WO 99/45712), SCH-66336 (патент США № 5874442), L778123 (WO 00/01691), 2(S)-[2(S)-[2(R)-амино-3-меркапто]пропиламино-3(S)метил]пентилокси-3-фенилпропионилметионин сульфон (WO 94/10138), BMS 214662 (WO 97/30992), AZD3409; соединения Pfizer A и B (WO 00/12499 и WO 00/12498) приведены в вышеупомянутых патентных описаниях, которые включены в настоящее описание посредством ссылки или известны или могут быть легко определены специалистом в данной области техники.

В отношении перрилового спирта, лекарственное средство может быть введено 1-4 г в день на человека-пациента 150 фунтов. В одном варианте осуществления 1-2 г в день на человека-пациента 150 фунтов. SCH-66336 обычно можно вводить в стандартной дозе от примерно 0,1 до 100 мг, более предпочтительно от примерно 1 до 300 мг в зависимости от конкретного применения. Соединения L778123 и 1-(3-хлорфенил)-4-[1-(4-цианобензил)-5-имидазолметил]-2-пиперазинон можно вводить пациенту-человеку в количестве от примерно 0,1 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела в день, предпочтительно от 0,5 мг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела в день.

Соединения Pfizer A и B можно вводить в дозировках от примерно 1,0 до примерно 500 мг в день, предпочтительно от примерно 1 до примерно 100 мг в день в однократных или разделенных (т.е. многократных) дозах. Терапевтические соединения обычно вводят в суточных дозах в диапазоне от примерно 0,01 до примерно 10 мг на кг массы тела в день, в однократных или разделенных дозах. BMS 214662 можно вводить в интервале доз от примерно 0,05 до 200 мг/кг/день, предпочтительно менее 100 мг/кг/день в однократной дозе или в 2-4 дозы.

В некоторых вариантах осуществления лечение FTI назначают в сочетании с радиотерапией или лучевой терапией. Радиотерапия включает использование γ -лучей рентгеновских лучей и/или направленной доставки радиоизотопов к опухолевым клеткам. Также рассматриваются другие формы факторов, повреждающих ДНК, такие как микроволны, протонное облучение (патенты США № 5760395 и 4870287; все они включены в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме) и УФ-облучение. Скорее всего, все эти факторы влияют на широкий спектр повреждений ДНК, предшественников ДНК, репликации и репарации ДНК, а также на сборку и поддержание хромосом.

В некоторых вариантах осуществления вводят терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции, включающей FTI, которая эффективно сенситизирует опухоль у хозяина к облучению, (патент США № 6545020, который включен в настоящий документ с помощью ссылки в полном объеме). Облучением может быть ионизирующее излучение и, в частности, гамма-излучение. В некоторых вариантах осуществления гамма-излучение испускается линейными ускорителями или радионуклидами. Облучение опухоли радионуклидами может быть внешним или внутренним.

Облучение также может быть рентгеновским излучением. Диапазон доз для рентгеновских лучей варьируется от суточных доз 50-200 рентгенов в течение продолжительных периодов времени (от 3 до 4 недель) до разовых доз 2000-6000 рентгенов. Диапазоны доз для радиоизотопов варьируются в широких пределах и зависят от периода полураспада изотопа, силы и типа испускаемого излучения и поглощения опухолевыми клетками.

В некоторых вариантах осуществления введение фармацевтической композиции начинается до одного месяца, в частности до 10 дней или недели, до облучения опухоли. Дополнительно облучение опу-

холи фракционируют, введение фармацевтической композиции поддерживают в интервале между первым и последним сеансами облучения.

Количество ФТИ, доза облучения и периодичность доз облучения будут зависеть от ряда параметров, таких как тип опухоли, ее местоположение, реакция пациента на химио- или лучевую терапию, и, в конечном счете, должны определяться врачом и рентгенологом в каждом отдельном случае.

С. Комбинированная терапия

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества второго активного средства или поддерживающую терапию. Вторым активным средством может быть химиотерапевтическое средство.

Химиотерапевтическое средство или лекарственное средство могут быть классифицированы по способу их активности в клетке, например, влияют ли они и на какой стадии на клеточный цикл. Альтернативно, средство может быть охарактеризовано на основе его способности непосредственно сшивать ДНК, интеркалировать в ДНК или индуцировать хромосомные и митотические aberrации, влияя на синтез нуклеиновой кислоты.

Примеры химиотерапевтических средств включают алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтре-тамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинон); камптотецин (включая синтетический аналог топо-текан); бриостатин; каллистатин; CC-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (в том числе синтетические аналоги, KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкратистатин; саркодиктиин; спонгистатин; азотные аналоги иприта, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстраму-стин, ифосфамид, мехлоретамин, гидрохлорид мехлоретаминоксида, мелфалан; новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид и урациловый аналог иприта; нитрозомочевина, такие как кармусти-н, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как энедининовые анти-биотики (например, калихеамицин, калихеамицин гамма, калихеамицин омега, динемидин, включая ди-немидин А; бифосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также неокарциностатиновый хромофор и родственные хромофоры хромопротеиновых энедининовых антибиотиков), алкациномизины, актиноми-цин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофиллин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин (включая морфолинодоксорубицин, цианоморфолинодоксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин и дезок-сидоксорубицин), эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марселломицин, митомицины, такие как мито-мицин С, микофеноловая кислота, ногамицин, оливомицины, пепломицин, потфирамицин, пурамицин, квеламицин, родорубицин, стрептоницин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин и зоруби-цин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат и триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн и тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин и флоксуридин; андрогены, такие как калу-стерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепителиостан, и тестостерон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как митотан, и трилостан; компенсатор фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамидгликозид; аминоклевулиновую кислоту; энилурацил; ам-сакрин; бестрабуцил; бисантрин; эдотраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; элфорнитин; эллипти-ния ацетат; эпотилон; этоглуцид; галлия нитрат; гидроксимочевину; лентинан; лонидаинин; майтанси-ноиды, такие как майтансин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитразрин; пен-тостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид;

прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK; разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; те-нуазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно, токсин Т-2, вер-ракурин А, роридин А и ангуидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; мито-лактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ага-С"); циклофосфамид; таксоиды, например паклитаксел и доцетаксел гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; координационные комплексы платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платина;

этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин;

винорелбин; новантрон; тенипозид; эдотраксат; дауномицин; аминоклевулиновую кислоту; кселода; ибандронат; иринотекан (например, CPT-11); ингибитор топоизомеразы RFS 2000; диформетилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; карбоплатин, прокарбазин, пликомицин, гемци-табин, навельбин, трансплатин и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеуказанного.

Вторые активные средства могут быть большими молекулами (например, белками) или небольшо-ми молекулами (например, синтетическими неорганическими, металлоорганическими или органически-ми молекулами). В некоторых вариантах осуществления второе активное средство представляет собой ДНК-гипометилирующее средство, терапевтическое антитело, которое специфически связывается с ра-

ковым антигеном, гемопоэтический фактор роста, цитокин, противораковое средство, антибиотик, ингибитор ЦОГ-2, иммуномодулирующее средство, антитимоцитарный глобулин, иммунодепрессивное средство, кортикостероид или его фармакологически активный мутант или его производное.

В некоторых вариантах осуществления второе активное средство представляет собой ДНК-гипометилирующее средство, такое как аналог цитидина (например, азациитидин) или 5-азадеоксицитидин (например, децитабин). В некоторых вариантах осуществления второе активное средство представляет собой циторедуктивное средство, включая, но не ограничиваясь этим, индукция, топотекан, гидреа, РО этопозид, леналидомид, LDAC и тиогуанин. В некоторых вариантах осуществления второе активное средство представляет собой митоксантрон, этопозид, цитарабин или вальсподар. В некоторых вариантах осуществления второе активное средство представляет собой митоксантрон плюс вальсподар, этопозид плюс вальсподар или цитарабин плюс вальсподар. В некоторых вариантах осуществления второе активное средство представляет собой идарубицин, флударабин, топотекан или ага-С. В некоторых других вариантах осуществления второе активное средство представляет собой идарубицин плюс ага-С, флударабин плюс ага-С, митоксантрон плюс ага-С или топотекан плюс ага-С. В некоторых вариантах осуществления второе активное средство представляет собой хинин. Могут быть использованы другие комбинации указанных выше средств, и врач может определить дозировку.

Для любого конкретного типа рака, описанного в настоящем документе, лечение, описанное в настоящем документе или иное доступное в данной области, может быть использовано в комбинации с лечением FTI. Например, лекарственные средства, которые можно использовать в комбинации с FTI для PTCL, включают белинонат (Beleodaq®) и пралатрексат (Folotyn®), представленный Spectrum Pharmaceuticals, ромидепсин (Istodax®), представленный компанией Celgene, и брентуксимаб ведотин (Adcetris®) (для ALLCL), представленный Seattle Genetics; лекарственные средства, которые можно использовать в комбинации с FTI для лечения MDS, включают азациитидин (Vidaza®) и леналидомид (Revlimid®), представленный Celgene, и децитабин (Dacogen®), представленный Otsuka and Johnson & Johnson; лекарственные средства, которые можно использовать в комбинации с FTI для лечения рака щитовидной железы, включают вандетаниб AstraZeneca (Caprelsa®), сорафениб Bayer (Nexavar®), кабозантиб Exelixis (Cometriq®) и ленватиниб Eisai (Lenvima®).

Нецитотоксические препараты, такие как пралатрексат (Folotyn®), ромидепсин (Istodax®) и белинонат (Beleodaq®), также можно использовать в комбинации с лечением FTI.

В некоторых вариантах осуществления предполагается, что второе активное средство или вторая терапия, используемые в комбинации с FTI, могут вводиться до, в то же время или после лечения FTI. В некоторых вариантах осуществления второе активное средство или вторую терапию, используемую в комбинации с FTI, можно вводить до лечения FTI. В некоторых вариантах осуществления второе активное средство или вторую терапию, используемую в комбинации с FTI, можно вводить одновременно с лечением FTI. В некоторых вариантах осуществления второе активное средство или вторую терапию, используемую в комбинации с FTI, можно вводить после лечения FTI.

Лечение FTI также можно вводить в комбинации с трансплантацией костного мозга. В некоторых вариантах осуществления FTI вводят до трансплантации костного мозга. В других вариантах осуществления FTI вводят после трансплантации костного мозга.

Специалист в данной области должен понимать, что способы, описанные в настоящем документе, включают использование любой перестановки или комбинации конкретного FTI, лекарственной формы, режима дозирования, дополнительной терапии для лечения субъекта, описанного в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления субъект, имеющий PTCL, который выбран для лечения типифарнибом, получает дозу 900 мг два раза в день перорально, чередуя введение чере неделю (одна неделя вводят, одна неделя не вводят) в повторяющихся 4-недельных циклах.

В некоторых вариантах осуществления субъект, имеющий PTCL, который выбран для лечения типифарнибом, получает дозу 600 мг два раза в день перорально, чередуя введение чере неделю (одна неделя вводят, одна неделя не вводят) в повторяющихся 4-недельных циклах.

Следует понимать, что модификации, которые существенно не влияют на активность различных вариантов осуществления настоящего изобретения, также предусмотрены в рамках определения изобретения, представленного в настоящем документе. Соответственно, следующие примеры предназначены для иллюстрации, но не для ограничения настоящего изобретения. Все ссылки, приведенные в настоящем документе, включены в качестве ссылки в их полном объеме.

Пример I. Клиническое исследование типифарниба у пациентов с PTCL

II фаза клинического исследования типифарниба может быть проведена с основной целью оценки противоопухолевой активности типифарниба с точки зрения частоты объективного ответа (ORR) у субъектов с рецидивирующей или рефрактерной прогрессирующей периферической Т-клеточной лимфомой (PTCL). Определение объективного ответа опухоли может быть выполнено с помощью международных экспертных критериев (IWC) и/или поддающегося количественной оценке кожного заболевания с помощью модифицированного инструмента взвешенной оценки тяжести заболевания (mSWAT). Вторичные

цели могут включать доступ к влиянию типифарниба на коэффициент выживаемости без прогрессирования (PFS) в течение 1 года, продолжительность ответа (DOR), общую выживаемость (OS); и безопасность и переносимость типифарниба.

Эта II фаза исследования исследует противоопухолевую активность с точки зрения ORR типифарниба у субъектов с PTCL. До 18 подходящих субъектов с прогрессирующей PTCL зарегистрировали. Общее количество пациентов может быть увеличено до 30.

Субъекты получали типифарниб, вводимый в начальной дозе 900 мг, перорально с пищей два раза в день (bid) в течение 7 дней, чередуя введение через неделю (дни 1-7 и 15-21) в 28-дневных циклах. По усмотрению исследователя доза типифарниба может быть увеличена до 1200 мг два раза в день, если субъект не испытывал токсичности, ограничивающей дозу при уровне дозы 900 мг. Субъекты, у которых развиваются серьезные нежелательные явления (SAE) или $\geq$ нежелательные явления, возникшие в ходе лечения, (TEAE) 2 степени, которые, как считается, связаны с типифарнибом и длятся ≥ 14 дней, не будут подвергаться увеличению дозы. Также возможно постепенное снижение дозы 300 мг для контроля токсичности, связанной с лечением, возникшей после начала лечения.

В отсутствие не поддающейся лечению токсичности субъекты могут продолжать получать лечение типифарнибом до прогрессирования заболевания. Если наблюдают полный ответ, терапию типифарнибом можно поддерживать в течение не менее 6 месяцев после начала ответа.

Оценку опухолей проводили при скрининге и по меньшей мере один раз каждые приблизительно 8 недель в течение 6 месяцев (циклы 2, 4, 6) и один раз каждые приблизительно 12 недель (циклы 9, 12, 15 и т.п.) после этого, вплоть до прогрессирования заболевания, начиная с конца цикла 2. Дополнительные исследования опухоли могут быть проведены, если исследователь считает это необходимым. Субъекты, которые прекращают лечение типифарнибом по причинам, отличным от прогрессирования заболевания, должны продолжать оценку опухоли до прогрессирования заболевания, отмены согласия субъекта на исследование

Пример II. Данные об активности в клиническом исследовании типифарниба у пациентов с PTCL

Доказательства клинической активности были изучены в когорте пациентов, включенных в исследование, описанное в примере I. Долговременные ответы (в среднем 11 месяцев) наблюдали у 4 из 8 пациентов с PTCL.

Исследование представляло собой исследование II фазы восемнадцати пациентов с двухстадийной схемой Саймона (11+7). Два ответа потребовались после первых одиннадцати оцениваемых пациентов, чтобы перейти ко второй стадии. Включение в исследование должно быть расширено до тридцати пациентов, если пять ответов наблюдаются на первой стадии.

Доза 900 мг два раза в день в течение семи дней при введении через одну неделю была изменена на первой стадии до 600 мг два раза в день в течение семи дней при введении через неделю.

На фиг. 1 показано количество циклов, полученных каждым из восемнадцати пациентов, которым вводили дозу в первый момент времени во время исследования. Каждый из восемнадцати пациентов и тип PTCL перечислены в табл. 1 вместе с результатами. Наблюдали три частичных ответа (PR). Из двух субъектов с AITL оба показали PR. Три пациента находятся в процессе лечения, что показано стрелками на фиг. 1, и у двух пациентов было стабильное заболевание более шести месяцев.

Таблица 1
Полученные результаты субъектов и характеристики экспрессии для клинического исследования типифарниба у пациентов с PTCL

Субъект	гистология опухоли	SNV	Ответ	экспрессия CXCL12	экспрессия CXCR4	CXCL12/CXCR4 отношение	экспрессия KIR3DL2	экспрессия VCAM1	экспрессия CXCL13
1	PTCL-NOS	rs2839695	PD						
2	PTCL-NOS	CENPF R2729Q; SIK3 вариант	SD	3728	9329	0.4	76	4785	424
3	AITL	SIK3 вариант	PR	14076	1898	7.416	125	29134	1176
4	PTCL-NOS	3'UTR CXCL12 SNV положение 44873186; CENPF R2729Q	PD	1081	6408	0.169	58	5344	2088
5	ALCL-ALK	rs2839695; SIK3 вариант	PD	1211	8637	0.14	2	546	10
6	PTCL-NOS	rs2839695	PD	834	10668	0.078	33625	5746	715
7	PTCL-NOS	rs2839695	PD	325	11282	0.029	18533	1255	47
8	PTCL-NOS	rs2839695	PD						
9	PTCL-NOS	N/A	PD						
10	PTCL-NOS	rs2839695; CENPF R2729Q; SIK3 вариант	PD	1570	8890	0.177	178	2874	16876
11	AITL	CENPF R2729Q; SIK3 вариант	PR	3265	9274	0.352	6	7359	25355
12	PTCL-NOS		PD	759	4866	0.156	2457	2328	303
13	PTCL-NOS	CENPF R2729Q; SIK3 вариант	SD						
14	PTCL-NOS		PD	613	6256	0.098	5	1776	351
15	PTCL-NOS	N/A	PR						
16	PTCL-NOS	rs2839695; SIK3 вариант	PD	469	14617	0.032	6810	3643	4602
17	PTCL-NOS	CENPF R2729Q; SIK3 вариант	SD	1160	3811	0.304	29	1118	1039
18	PTCL-NOS	CENPF R2729Q; SIK3 вариант	SD	2659	3118	0.853	11	4111	1729

На фиг. 5 показано количество циклов, полученных каждым из восемнадцати пациентов, которым вводили дозу в более поздний второй момент времени во время исследования. Тип PTCL и статус SNV указаны на фиг. 5 для каждого пациента, а также результаты. Наблюдалось три частичных ответа (PR). Из двух субъектов с AITL оба показали PR. Два пациента находятся в процессе лечения, что показано стрелками на фиг. 1, и у четырех пациентов было стабильное заболевание более шести месяцев.

Фиксированные формалином, погруженные в парафин (FFPE) образцы получали от всех субъектов для анализа экспрессии генов с использованием РНК Seq и однонуклеотидной вариации (SNV, включая SNP и мутации) с использованием секвенирования следующего поколения (NGS). Тринадцать образцов прошли контроль качества (QC) для анализа экспрессии. Шестнадцать образцов прошли контроль качества для анализа SNV.

Экспрессия CXCL12 и CXCR4, а также отношение экспрессии CXCL12 к CXCR4 измеряли у тринадцати субъектов, как показано в табл. 1. Субъекты с отношением CXCL12/CXCR4 более 0,200 имели PR или стабильное заболевание (SD). Субъекты с отношением CXCL12/CXCR4, меньшим или равным 0,200, не демонстрировали PR или SD, как показано в табл. 1. Медиана выживаемости без прогрессирования (mPFS) для пациентов с отношением CXCL12/CXCR4 >0,200 составляла 189 дней (N=5), тогда как mPFS для пациентов с отношением CXCL12/CXCR4 ≤0,200 составляла 51 день (N=7), как показано на фиг. 2 (HR=0,22; P=0,004). Экспрессия VCAM1 и CXCL13 также была измерена у этих тринадцати субъектов.

Восемь субъектов (50%) из шестнадцати, для которых NGS прошли QC, несли SNV в 3' UTR гена CXCL12. Семь были носителями rs2839695 (A/G в положении 44873849 в 3' UTR CXCL12). Один субъект нес оба rs2839695 и новый 3' UTR SNV в положении 44866733. Один дополнительный субъект нес новый 3' UTR SNV в положении 44873186. Опухоли, несущие rs2839695, имели более низкие отношения CXCL12/CXCR4, как видно на фиг. 3 и в табл. 1. Субъект 4, у которого был новый 3' UTR SNV в поло-

жении 44873186, продемонстрировал очень низкое отношение CXCL12/CXCR4. Частота 3'UTR SNV (0,5) была редкой. Ожидаемые частоты rs2839695 в общей популяции были следующими: 1000G_AFR=0,2; 1000G_AMR=0,097; 1000G_EAS=0,001; 1000G_EUR=0,2; 1000G_SAS=0,045. CXCL12 rs2839695 был связан с плохим прогнозом в лечении типифарнибом PTCL, как показано на фиг. 4. mPFS для тех пациентов без SNV в 3' UTR CXCL12 составляла 189 дней (N=8), тогда как у тех пациентов с CXCL12 rs2839695 mPFS составляла 48 дней (N=7). В более поздний момент времени во время исследования mPFS для тех пациентов без SNV в 3' UTR CXCL12 составляла 134 дня (N=8), тогда как у тех пациентов с CXCL12 rs2839695 mPFS составляла 50 дней (N=7), как показано на фиг. 6.

На фиг. 7 и 8 показаны результаты экспериментов *in vitro* с клеточными линиями Т-клеточного лейкоза и лимфомы, которые дополнительно демонстрируют, что экспрессия CXCL12 и вариация гена CXCL12 3'UTR могут быть полезны в качестве биомаркеров активности типифарниба при PTCL. На фиг. 7. показано, что CXCL20 экспрессируется в определенных чувствительных к типифарнибу клеточных линиях T-LL и не обнаруживается в других клеточных линиях T-LL, которые устойчивы к типифарнибу. На фиг. 8 показано, что активность типифарниба выше (IC₅₀ ниже) у клеток T-LL, демонстрирующих более высокую экспрессию CXCL12, чем у клеток T-LL, демонстрирующих более низкую экспрессию CXCL12.

В табл. 1 также показаны уровни экспрессии KIR3DL2 для 13 субъектов. Субъекты с высокой экспрессией KIR3DL2 (например, более 1000) не показали PR или SD. Таким образом, по-видимому, типифарниб не проявляет активности в PTCL с экспрессией KIR3DL2.

Вариант гена CENPF R2729Q наблюдали у 7 из 16 субъектов (44%) (табл. 1). Пять из шести субъектов с лучшим ответом PR/SD и 2 из 10 субъектов с лучшим ответом PD (не прошедшие отбор образцы были получены у 2 субъектов) имели R2729Q. Общая частота R2729Q у населения Америки составляет 59%.

SNP, расположенные в N-концевой кодирующей последовательности SIK3 (S986Y, P1076R, P1136R (5 субъектов), S1163G), наблюдали у 8 субъектов (табл. 1). У дополнительного субъекта была опухоль с мутацией N559H (общая вариабельность 50%) 6 из 6 субъектов с лучшим ответом на PR/SD и 3 из 11 субъектов с лучшим ответом PD имели SNV SIK3. Общая частота SNV гена SIK3 у населения Америки составляет 19%.

Пример III. Индивидуальные решения по лечению FTI

Следующие процедуры могут быть предприняты для определения подходит ли пациент для лечения FTI, такого как лечение типифарнибом.

Иммуноокрашивание на CXCL12, CXCR4 и/или KIR3DL2 может быть выполнено на фиксированных формалином, погруженных в парафин срезах ткани пациентов после демаскировки антигена в микроволновой печи в концентрации EDTA 1 ммоль/л, pH 8,0, с человеческим CXCL12, CXCR4, и/или KIR3DL2 моноклональным антителом, известное в данной области, с использованием стандартного непрямого авидин-биотинового метода с пероксидазой хрена и цветного проявления диаминобензидина, как хорошо известно в данной области. Окрашивание можно сравнить с окрашиванием контрольного мышиного антитела изотипа IgG, разведенного до идентичной концентрации белка для всех изученных случаев, чтобы подтвердить специфичность окрашивания.

Пациент также может быть проверен в отношении циркулирующего CXCL12, например, в образце сыворотки. Образцы биопсии также могут быть проверены на биомаркеры EBV, такие как CXCL13 и PD-1.

Т-клетки могут быть выделены из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), полученных из сыворотки пациента. Тотальная РНК может быть извлечена из образцов клеток с использованием набора Trizol Kit (Qiagen, Santa Clarita, CA). Оценка качества РНК может быть определена путем оценки наличия рибосомальных полос на биоанализаторе Agilent Bioanalyzer (Agilent, Palo Alto, CA). Образцы хорошего качества могут быть использованы для реакций обратной транскрипции (RT) с использованием набора High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems, Foster City, CA) в соответствии с инструкциями производителя. Количественная RT-PCR (qRT-PCR) может быть выполнена для CXCL12, CXCR4, SIK3 и/или CENPF с использованием системы детектирования ABI Prism 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems), при этом все образцы запускаются в трех экземплярах. Отрицательный контроль без кДНК-матрицы можно проводить с каждым анализом. Количество копий транскрипта на человека может быть вычислено путем нормализации к экспрессии EEF1A1.

Если у больного раком, например у пациента с PTCL, установлено, что он имеет высокую экспрессию CXCL12, и/или если у больного раком, например, у пациента с PTCL, определяется высокий уровень CXCL12 и низкие уровни CXCR4, и если у пациента нет других препятствий для получения лечения типифарнибом, назначают лечение типифарнибом. С другой стороны, если у больного раком, например, у пациента с PTCL, определено, что он не имеет высокой экспрессии CXCL12, или если у больного раком, например, у пациента с PTCL, определено, что он имеет низкие уровни CXCL12 или высокие уровни CXCR4, лечение типифарнибом не рекомендуется.

Если у больного раком, например у пациента с PTCL, определена экспрессия варианта гена SIK3 или экспрессия варианта CENPF R2729Q и если у пациента нет других препятствий для получения лечения типифарнибом, назначают лечение типифарнибом.

Если у больного раком, например у пациента с PTCL, установлено наличие экспрессии KIR3DL2, лечение типифарнибом не рекомендуется.

Если у больного раком, например у пациента с PTCL, установлено, что он имеет однонуклеотидный вариант 3' UTR CXCL12, лечение типифарнибом не рекомендуется. ДНК для определения варианта 3' UTR CXCL12 может быть получена из биопсии опухоли, биопсии лимфатического узла, аспиратов костного мозга, образцов крови, РВМС, полученных из образцов крови или буккальных свапов.

Если лечение типифарнибом назначают больному раком, например, пациенту с PTCL, больному раком, например, пациент с PTCL, может одновременно получать другое лечение, такое как ионизирующее излучение, или второе активное средство, или поддерживающую терапию, как посчитает нужным онколог. Вторым активным средством может быть ДНК-гипометилирующее средство, такое как азацитидин или децитабин.

Пример IV. Данные об активности в клиническом исследовании типифарниба у пациентов с AML

Предыдущие клинические исследования с типифарнибом проводили у пожилых пациентов с впервые выявленным AML с высоким риском AML (СТЕР-20, фаза 2) или рецидивирующим и рефрактерным AML (INT-17, фаза 2). В этих исследованиях отбор пациентов не основывался на генетических маркерах. Сообщалось об отдельных данных об активности единственного средства типифарниба. Однако общая клиническая активность в популяции пациентов не поддерживала регистрацию типифарниба.

Анализ данных профилирования экспрессии мРНК от пациентов в исследованиях СТЕР-20 и INT-17 показал, что эффективность типифарниба была выше у пациентов с относительно повышенными отношениями экспрессии CXCL12/CXCR4. На фиг. 9 показано, что не проходившие лечение пожилые слабые пациенты с AML в тертиле с наиболее выраженной экспрессией CXCL12 (самый высокий уровень экспрессии CXCL12), показали 431 день медианы выживаемости без прогрессирования (mPFS), пациенты во втором тертиле показали 89 дней mPFS и пациенты в третьем тертиле (самый низкий уровень экспрессии CXCL12) показали 33 дня mPFS при той же схеме лечения типифарнибом. На фиг. 10 показано, что пациенты с рецидивирующим или рефрактерным AML в самом высоком квинтиле экспрессии CXCR4 показали 182 дня медианы выживаемости, что примерно вдвое превышает медианы выживаемости пациентов в самом низком квинтиле экспрессии CXCR4.

Эти результаты показывают, что пациент с AML, получающий пользу от типифарниба, может быть идентифицирован и отобран для лечения типифарнибом на основании уровней экспрессии CXCL12 и CXCR4 у пациентов.

Пример V. Данные об активности в клиническом исследовании типифарниба у пациентов с PTCL

В этом примере описана 2 фаза исследования (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02464228), предназначенная для исследования противоопухолевой активности типифарниба у 18 пациентов с рецидивирующим или рефрактерным PTCL, и некоторые результаты исследования.

Первичные критерии эффективности: Частота объективного ответа (ORR) с помощью международных экспертных критериев (IWC) и/или поддающегося количественной оценке кожного заболевания с помощью модифицированного инструмента взвешенной оценки тяжести заболевания (mSWAT). Вторичные критерии эффективности включают эффект типифарниба на коэффициент выживаемости без прогрессирования (PFS) в течение 1 года, продолжительность ответа (DOR); и безопасность и переносимость типифарниба.

План исследования: перорально типифарниб 300 мг два раза в день (bid) в дни 1-21 из 28-дневных циклов лечения. Двухстадийная схема Саймона для ORR.

AITL расширенная когорта: На основании наблюдаемой противоопухолевой активности на стадиях 1 и 2, регистрируется AITL расширенная когорта (N=12). Рецидивирующая или рефрактерная по меньшей мере к 1 предшествующей системной цитотоксической терапии.

Распределение пациентов:

Всего подвергнутых лечению	N (%)	19 (100)
AITL	n (%)	3 (16)
ALCL, ALK негативная	n (%)	1 (5)
PTCL, NOS	n (%)	15 (79)
Предыдущие линии терапии	Медиана (диапазон)	4 (1-7)
Полное прекращение	n (%)	17 (89)
Причины прекращения:		
Прогрессирование заболевания	n (%)	16 (94)
Отзыв согласия	n (%)	1 (6)

Безопасность и переносимость: Токсичность соответствовала известному профилю безопасности типифарниба. Степень ≥ 3 связанных с лекарственным средством TEAE, встречающихся у $\geq 10\%$ пациентов, были связаны с гематологией: нейтропения (74%), тромбоцитопения (58%), лейкопения (47%), ане-

мия и фебрильная нейтропения (по 32% каждый) и лимфопения (16%). Миелосупрессия была управляемой с прерыванием лечения, снижением дозы и/или поддержкой переливания. Режим дозирования был изменен на 300 мг два раза в день в дни 1-21 из 28-дневных циклов лечения из-за наблюдаемого профиля переносимости режима чередования введения через неделю, протестированного на стадиях 1 и 2 исследования.

Восемь изученных субъектов несли CXCL12 3' UTR SNV rs2839695; один субъект показал новый CXCL12 3' UTR вариант, а 8 субъектов имели эталонные последовательности 3' UTR CXCL12.

Последние предшествующие виды терапии, которым подвергались исследуемые субъекты: химиотерапия (7 субъектов), брентиксумаб (4 субъекта), HDACi (2 субъекта), леналидомид (2 субъекта), руксолитиниб (1 субъект).

Средняя общая PFS для типифарниба (5-я линия) у субъектов с данными NGS составила 53 дня (общая PFS для всех субъектов с данными NGS, в том числе с эталонным CXCL12 3' UTR и вариантом CXCL12 3' UTR). Медиана общего PFS для этих субъектов на их последней предшествующей терапии составила 82 дня.

Низкая экспрессия CXCL12 наблюдалась в образцах опухолей, содержащих вариант CXCL12 rs2839695 3' UTR.

На фиг. 11, 12A и 12B показано, что клиническая польза от типифарниба связана с генотипом CXCL12.

На фиг. 11 показано процентное снижение SPD по сравнению с циклами лечения типифарнибом для субъектов с эталонной 3' UTR CXCL12 ("эталон") по сравнению с субъектами с вариантом 3' UTR CXCL12 (CXCL12 3' UTR SNV rs2839695 или новый вариант 3' UTR CXCL12). SPD представляет собой сумму произведений диаметров, которая является мерой размера опухоли. На фиг. 11 показано, что типифарниб уменьшает размер опухоли у субъектов, которые имеют эталонную 3'-UTR CXCL12 (то есть без SNV в 3'-UTR гена CXCL12), как показано отрицательным % снижения SPD у субъектов с эталонным 3'-UTR.

На фиг. 12A показана выживаемость без прогрессирования заболевания у субъектов, несущих эталонную 3' UTR CXCL12, получавших лечение типифарнибом, и у субъектов, несущих эталонную 3' UTR CXCL12, получавших последнюю предшествующую терапию. Субъекты, получавшие лечение типифарнибом, имели mPFS 133 дня, в то время как субъекты, получавшие лечение последней предшествующей терапией, имели mPFS 85 дней. $p=0,09$.

На фиг. 12B показана выживаемость без прогрессирования заболевания у субъектов, несущих вариант 3' UTR CXCL12, получавших лечение типифарнибом, и у субъектов, несущих вариант 3' UTR CXCL12, получавших последнюю предшествующую терапию. Субъекты, получавшие лечение типифарнибом, имели mPFS 34 дня, в то время как субъекты, получавшие лечение последней предшествующей терапией, имели mPFS 43 дня. Не было выявлено существенных различий между группами.

Экспрессию CXCL12 и CXCR4, а также отношение экспрессии CXCL12 к CXCR4 измеряли у 15 субъектов. Субъекты, несущие эталонную 3' UTR CXCL12, показали более высокое отношение CXCL12 к CXCR4 по сравнению с субъектами, несущими CXCL12 3' UTR SNV rs2839695, как показано на фиг. 12C.

На фиг. 13A и 13B показано, что клиническая эффективность от типифарниба связана с экспрессией CXCL12.

Низкая экспрессия CXCL12 наблюдалась в образцах опухолей, несущих вариант 3' UTR CXCL12 rs2839695. Средняя общая PFS для типифарниба (5-я линия) у субъектов с данными NGS составила 53 дня (общая PFS для всех субъектов с данными NGS, в том числе с эталонной 3' UTR CXCL12 и вариантом 3' UTR CXCL12). Медиана PFS для тех же субъектов на последнем предшествующем лечении составила 84 дня.

На фиг. 13A показана выживаемость без прогрессирования заболевания у субъектов с низкой экспрессией CXCL12, получавших лечение типифарниба, и у субъектов с высокой экспрессией CXCL12, получавших типифарниб. Субъекты с низкой экспрессией CXCL12 имели mPFS 49 дней, в то время как субъекты с высокой экспрессией CXCL12 имели mPFS 190 дней. $p=0,0015$.

На фиг. 13B показана выживаемость без прогрессирования заболевания у субъектов с низкой экспрессией CXCL12, получавших последнюю предшествующую терапию, и у субъектов с высокой экспрессией CXCL12, получавших последнюю предшествующую терапию. Не наблюдалось значительного различия между субъектами с низкой экспрессией CXCL12 и субъектами с высокой экспрессией CXCL12.

На фиг. 13A и 13B показано, что типифарниб, но не стандартное лечение, удвоил PFS последней предшествующей терапии у субъектов с эталонной CXCL12 3' UTR.

Данные по экспрессии гена опухоли были доступны для 12 пациентов. Пять из этих пациентов показали уменьшение размера опухоли и продолжительное (> 6 месяцев) среднее время до прогрессирования, что было связано с повышенной экспрессией CXCL12 ($p<0,001$). Два пациента с гистологией AITL экспрессировали высокие уровни CXCL12 и показали PR. Один из пациентов с AITL сверхэкспрессиро-

вал CXCL13 и умеренный VCAM1, в то время как другой сверхэкспрессировал VCAM1 и другие сосудистые маркеры (PDGFRA, ANGPT1, TEK), указывая на два известных механизма повышенной регуляции CXCL12 (понижающая регуляция Mir23A CXCL13 в клетках стромы и продуцирование васкулярных эндотелиальных клеток CXCL12). Полученные результаты субъектов и характеристики экспрессии для клинического исследования типифарниба у пациентов с PTCL приведены в табл. 2 и 3 ниже:

Таблица 2
PHK Seq Эксперимент#1

Пациент	2002	2004	3002	4001	2001	4004
Гистология опухоли	NOS	NOS	NOS	NOS	NOS	AITL
Ответ	PD	PD	PD	SD	SD	PR
CXCL12 экспрессия	469	759	613	2659	1160	3265
CXCL13 экспрессия	4602	303	351	1729	1039	25355
VCAM1 экспрессия	3643	2328	1776	4111	1118	7359
PDGFRA экспрессия	898	1538	1453	1038	440	1080
ANGPT1 экспрессия	0	21	188	84	0	28
TEK экспрессия	495	634	791	734	138	691
GAPDH экспрессия	17369	10574	9485	12101	6328	16189

Таблица 3
PHK Seq Эксперимент#2

Пациент	2005	2006	4005	4006	4007	6003	2007
Гистология опухоли	NOS	NOS	NOS	NOS	NOS	NOS	AITL
Ответ	PD	PD	PD	PD	PD	SD	PR
CXCL12 экспрессия	1570	325	834	1211	1081	3728	14076
CXCL13 экспрессия	16876	47	715	10	2088	424	1176
VCAM1 экспрессия	2874	1255	5746	546	5344	4785	29134
PDGFRA экспрессия	1415	74	2037	2872	684	856	6227
ANGPT1 экспрессия	34	43	24	63	22	93	769
TEK экспрессия	560	192	207	990	436	389	4542
GAPDH экспрессия	45614	22595	15801	112381	17003	27244	10403

Результаты исследования показали обнадеживающую активность типифарниба у пациентов с PTCL, особенно у пациентов с опухолями гистологии AITL и высокой экспрессией CXCL12. Типифарниб был также в целом хорошо переносимым. Наиболее распространенные связанные с лечением АЕ (степень ≤ 3) были связаны с гематологией, включая нейтропению, тромбоцитопению, лейкопению, анемию и фебрильную нейтропению.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака с экспрессией CXCL12 у субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества типифарниба субъекту, где рак представляет собой периферическую Т-клеточную лимфому (PTCL) или острый миелоидный лейкоз (AML).
2. Способ по п.1, где PTCL представляет собой рецидивирующую или рефрактерную PTCL.
3. Способ по п.1, где PTCL представляет собой ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому (AITL).
4. Способ по п.3, где AITL представляет собой рецидивирующий или рефрактерный AITL.
5. Способ по п.1, где AML представляет собой впервые диагностированный AML.
6. Способ по п.1 или 5, где субъект, страдающий AML, является либо пожилым пациентом, непод-

ходящим для химиотерапии, либо с высоким риском AML.

7. Способ по пп.1, 5 или 6, где AML является рецидивирующим или рефрактерным AML.

8. Способ по любому из пп.1-7, где типифарниб выборочно вводят субъекту, имеющему отношение уровня экспрессии CXCL12 к уровню экспрессии CXCR4, который выше, чем эталонное отношение, где эталонное отношение составляет 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

9. Способ по любому из пп.1-8, где способ включает определение статуса однонуклеотидного варианта (SNV) CXCL12 в образце от субъекта и селективное введение указанного типифарниба субъекту, который не имеет однонуклеотидный вариант (SNV) в 3' UTR CXCL12, где SNV в 3' UTR CXCL12 представляет собой rs2839695; и/или где способ включает определение статуса SNV SIK3 в образце от субъекта и селективное введение указанного типифарниба субъекту, имеющему SNV в SIK3.

10. Способ по любому из пп.1-9, где способ содержит определение статуса SNV CENPF в образце от субъекта и селективное введение указанного типифарниба субъекту, имеющему вариант R2729Q в CENPF.

11. Способ по любому из пп.1-10, где типифарниб вводят в дозе 0,001-2000 мг/кг массы тела в день; или где способ включает введение фармацевтической единичной формы, обеспечивающей от 1 до 1000 мг или от 10 до 500 мг указанного типифарниба на дозированную единичную форму.

12. Способ по любому из пп.1-11, где типифарниб вводят два раза в день.

13. Способ по п.12, где типифарниб вводят в дозе 200-1200 мг два раза в день.

14. Способ по п.13, где типифарниб вводят в дозе 200, 300, 400, 600, 900 или 1200 мг два раза в день.

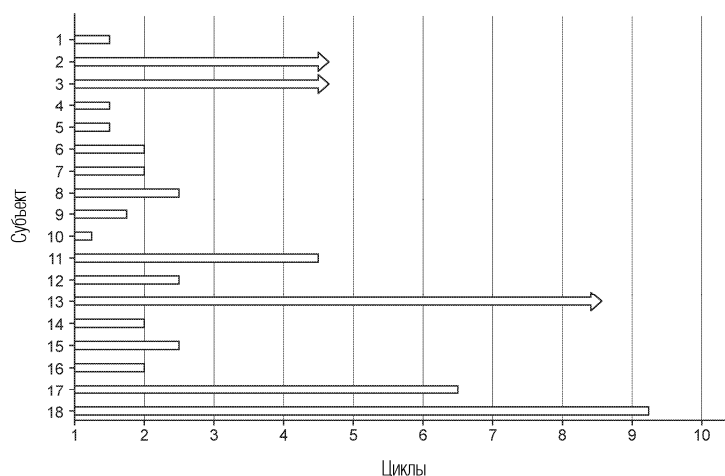
15. Способ по п.14, где типифарниб вводят в дозе 200, 300, 400, 600 или 900 мг два раза в день.

16. Способ по любому из пп.1-10, где типифарниб вводят в дни 1-7 и 15-21 28-дневного цикла лечения.

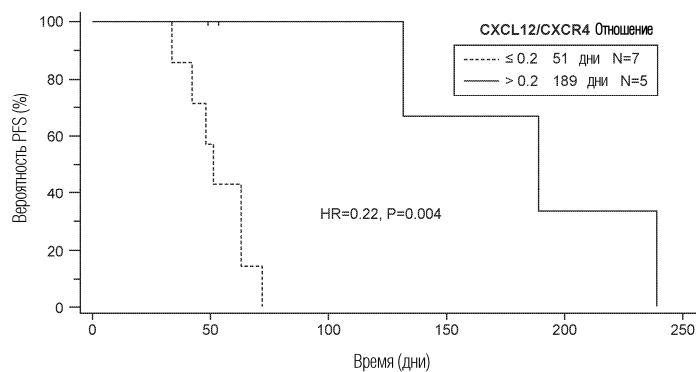
17. Способ по любому из пп.1-10, где типифарниб вводят перорально в дозе 300 мг 2 раза в день в дни 1-21 28-дневного цикла лечения.

18. Способ по любому из пп.1-17, где типифарниб вводят до, во время или после облучения.

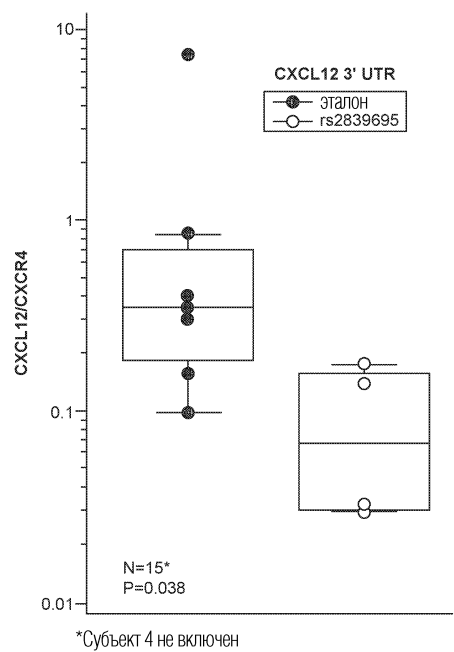
19. Способ по любому из пп.1-18, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества второго активного средства или поддерживающей терапии.



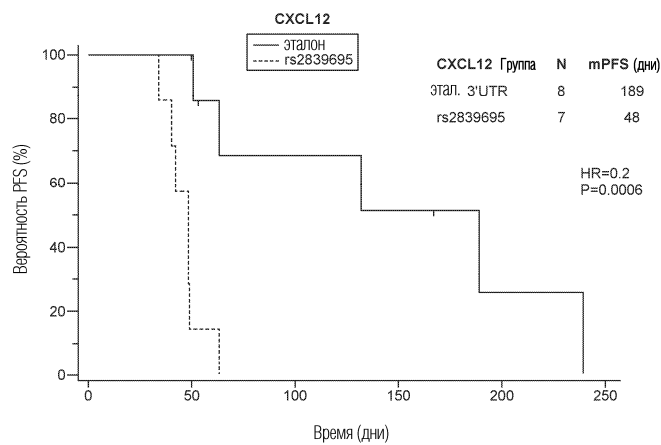
Фиг. 1



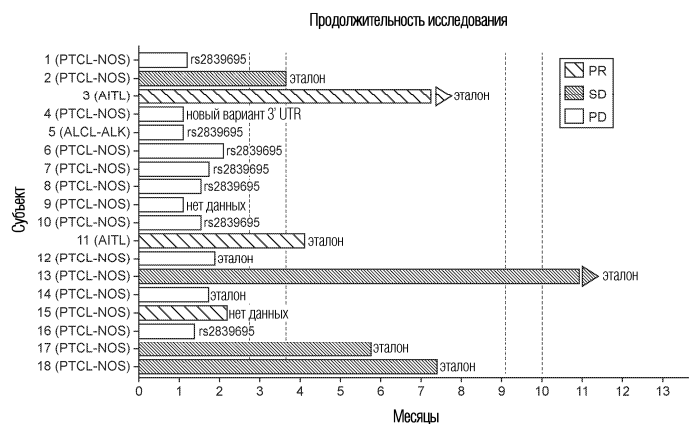
Фиг. 2



Фиг. 3

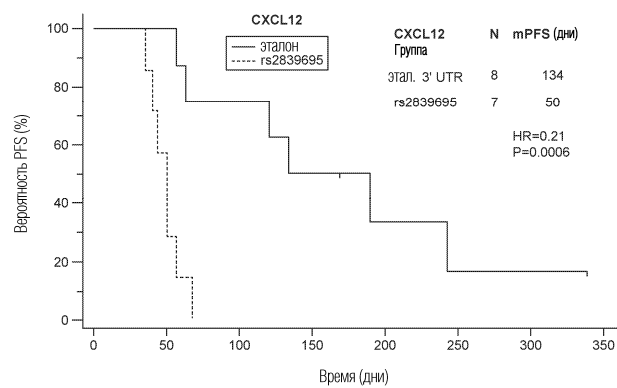


Фиг. 4

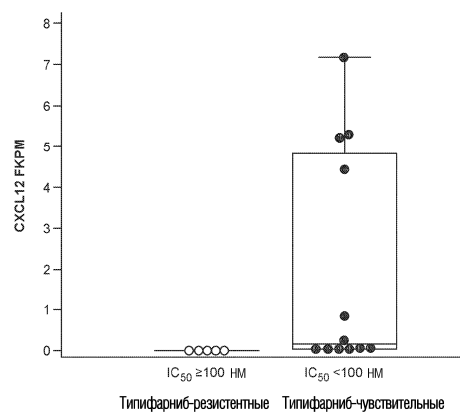


Фиг. 5

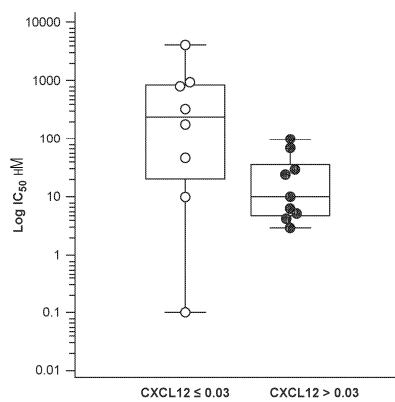
041731



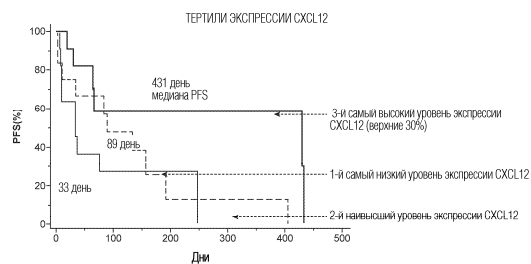
Фиг. 6



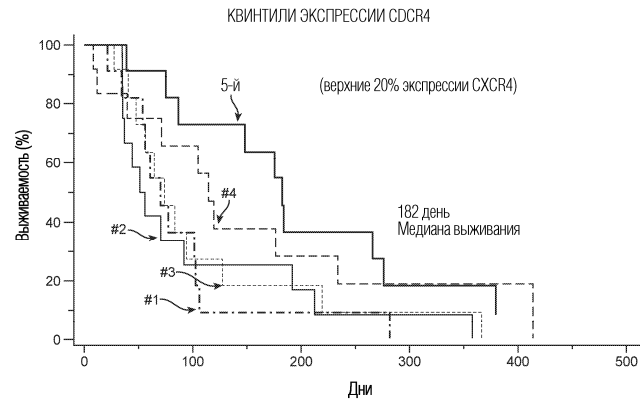
Фиг. 7



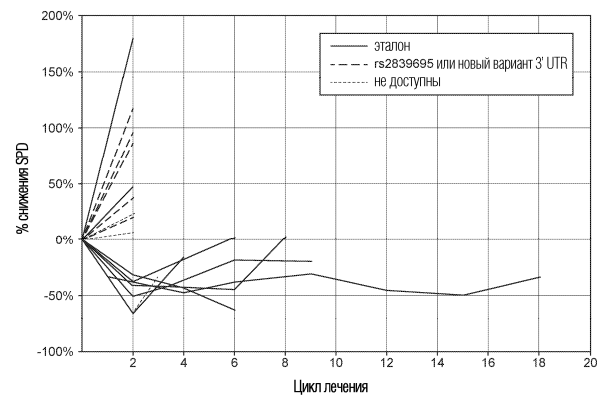
Фиг. 8



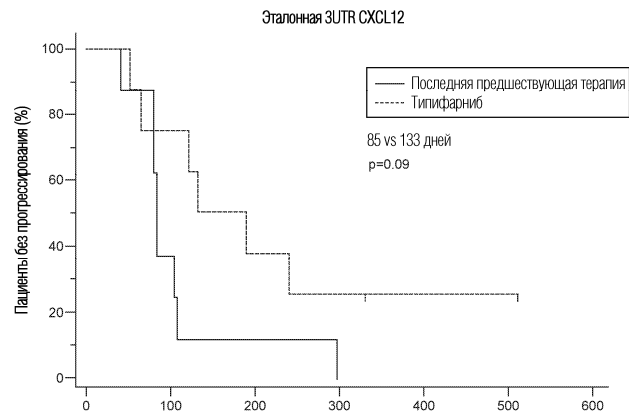
Фиг. 9



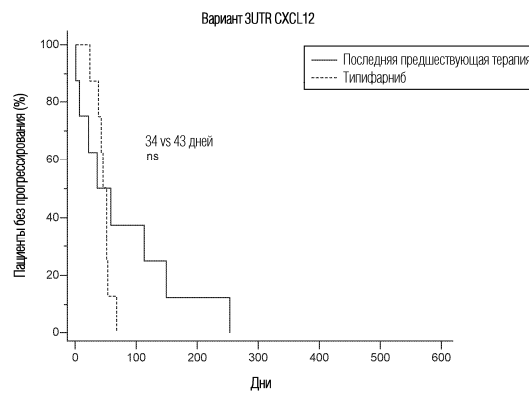
Фиг. 10



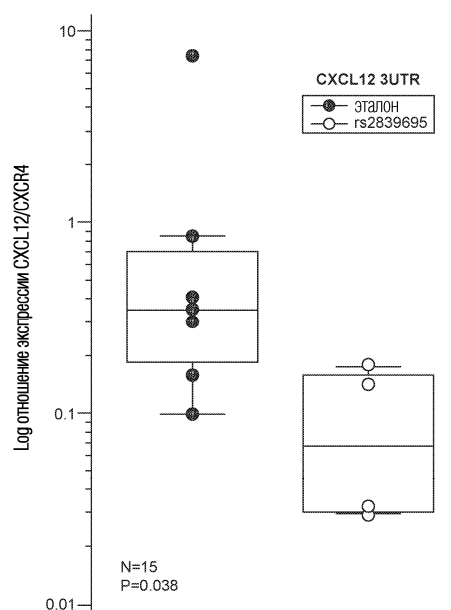
Фиг. 11



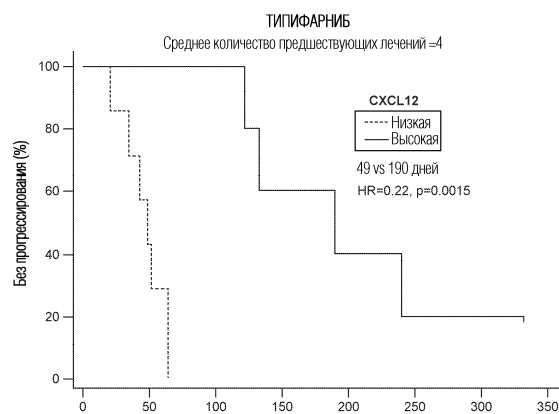
Фиг. 12А



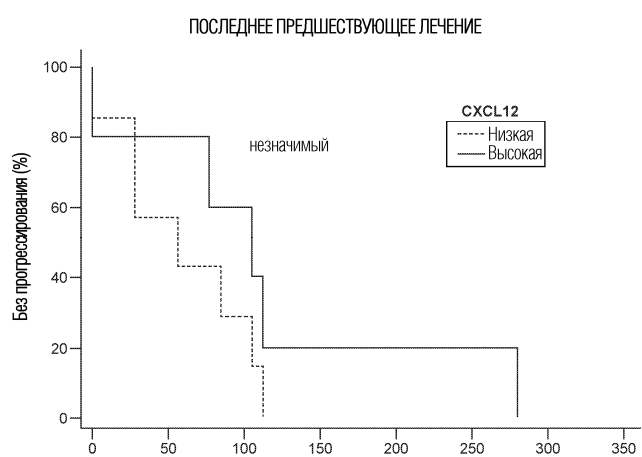
Фиг. 12В



Фиг. 12С



Фиг. 13А



Фиг. 13В

