

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202393320** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.02.05

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.05.19

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ОПУХОЛЯМИ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

(31) **2021-0045**

(72) Изобретатель:

(32) **2021.05.26**

Кромбет Рамос Тая, Меса Пардильо Сирсе, Леон Монсон Калет, Масорра Эррера Саима, Сааведра Эрнандес Данай, Лоренцо-Луасес Альварес Патрисиа (CU), Дай Грейс, Рид Мэри, Эванс Рейчел, Манитч Джейсон, Ли Келвин, Хатсон Алан, Джонсон Кендейс (US)

(33) **CU**

(86) **PCT/CU2022/050004**

(87) **WO 2022/247972 2022.12.01**

(88) **2023.01.12**

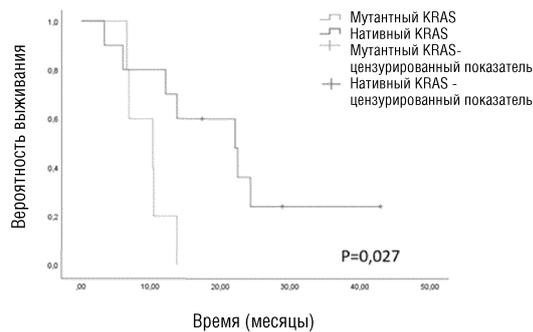
(71) Заявитель:

СЕНТРО ДЕ ИНМУНОЛОГИА МОЛЕКУЛАР; ИННОВЭЙТИВ ИММЬЮНОТЕРАПИ ЭЛЛАЙЕНС С.А. (CU)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к областям биотехнологии и медицины. В нем описано применение терапевтических композиций, содержащих соединение, которое блокирует эпидермальный фактор роста, и антитело, которое блокирует сигнальный путь PD1/лиганда PD1, в лечении опухолей эпителиального происхождения, особенно тех, которые экспрессируют нативную форму человеческого белка KRAS. У пациентов с раком эпителиального происхождения, экспрессирующим нативный KRAS, получавших лечение указанными терапевтическими композициями, наблюдалось увеличение выживаемости.



A1

202393320

202393320

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420- 579899EA/032

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ОПУХОЛЯМИ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к областям биотехнологии и медицины. В частности, описано применение терапевтических композиций для лечения пациентов с опухолями эпителиального происхождения путем одновременного блокирования эпидермального фактора роста и сигнального пути PD1/лиганда PD1.

ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Молекулы, называемые «контрольными точками», среди которых выделяются рецептор PD1 и его лиганд PDL1, отрицательно регулируют противоопухолевый ответ, создаваемый иммунной системой. Моноклональные антитела (мАт), которые блокируют передачу ингибирующего сигнала в этих контрольных точках (анти-ИКТ), индуцируют более эффективный противоопухолевый ответ. По состоянию на декабрь 2020 г. семь моноклональных анти-ИКТ антител были одобрены для лечения многочисленных «иммуночувствительных» злокачественных опухолей, таких как меланома, рак легких, плоскоклеточные опухоли головы и шеи, гепатокарцинома, уротелиальный рак, рак желудка, опухоли молочной железы и колоректальный рак (Ravindranathan D *et al.* (2021) *Biology*, 10: 325).

В число наиболее успешных моноклональных анти-ИКТ антител входят PD1-специфические (анти-PD1) ниволумаб и пембролизумаб, а также атезолизумаб и дурвалумаб против PDL1. Показано, что эти терапевтические средства более эффективны в отношении тех опухолей, которые экспрессируют молекулы PDL1 и имеют высокую частоту мутаций и инфильтрат иммунных клеток, потенциально способных атаковать опухоль в случае блокирования ингибирующего сигнала (Gibney GT *et al.* (2016) *Lancet Oncol.* 17(12): e542-e551). Также были разработаны низкомолекулярные ингибиторы PD1/PDL1 с обнадеживающими результатами в плане блокирования этого сигнального пути без проявления побочных эффектов, связанных с иммунной системой (Liu Ch *et al.* (2021) *Cancer Cell Int.* 21:e1-e17).

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) представляет собой тирозинкиназный рецептор и известный онкоген (Yarden Y. (2001) *European Journal of Cancer.* 37: S3-S8), который активируется семью природными лигандами. В нескольких исследованиях сообщалось о дифференциальной активации сигнального каскада EGFR в зависимости от лиганда, который связывается с EGFR. Лиганды, такие как EGF, индуцируют передачу сигналов, способствующих пролиферации опухоли, в то время как лиганды с низким сродством, такие как амфирегулин, способствуют дифференциации (Freed DM *et al.* (2017) *Cell* 171: 1-13). Дифференциальная активация лиганд-зависимого сигнального каскада может иметь решающее значение при таргетированной терапии в отношении этих молекул, в отличие от прямой блокады рецептора, например, с помощью

моноклональных анти-EGFR антител или ингибиторов сигнального каскада TKI. Такие различия могут влиять на переносимость/безопасность лечения, а также на большую или меньшую клиническую эффективность в различных терапевтических контекстах. В этом смысле терапевтическим методом, направленным на лиганды EGFR, является использование вакцинных композиций, которые вызывают продуцирование специфических антител (Ат) против лиганда и, следовательно, блокируют его взаимодействие с EGFR. Примером такой терапевтической стратегии является вакцина CIMAvax-EGF, которая вызывает продуцирование специфических мАт против эпидермального фактора роста (EGF) человека, лишая опухоль этого важного лиганда. Многочисленные клинические исследования с участием пациентов с немелкоклеточным раком легких (НМРЛ), иммунизированных CIMAvax-EGF, показали, что вакцина является безопасной и иммуногенной. С точки зрения клинического ответа введение вакцины значительно увеличивало выживаемость пациентов (Rodriguez PC *et al.* (2016) *Clin Cancer Res.* 22(15):3782-90).

Одной из наиболее важных молекул, участвующих в передаче сигналов EGFR, является ГТФаза KRAS. Эта молекула также активирует несколько сигнальных каскадов, участвующих в онкогенезе. Приблизительно 30% всех опухолей человека имеют мутации в гене, кодирующем белок KRAS, которые индуцируют некоторую конститутивную активацию каскада EGF-R независимо от обычной активации мембранных рецепторов (Fernández-Medarde, A *et al.* (2011) *Genes and Cancer.* 2:344-358).

Мутации этого гена преобладают в некоторых из этих неоплазий, таких как аденокарцинома поджелудочной железы, причем мутации наблюдаются в 90% опухолей. В других аденокарциномах, таких как рак толстой кишки, они присутствуют в 40% случаев. В случае легких мутация KRAS присутствует в 30% всех немелкоклеточных опухолей легких, главным образом при гистологии аденокарциномы (Moore AR *et al.* (2020) *Nat Rev Drug Discov.* 19(8): 533-552).

В таких опухолях, как опухоль поджелудочной железы и толстой кишки, наличие мутаций KRAS способствует росту опухоли и устойчивости ее к терапии (Haigis KM *et al.* (2008) *Nat Genet.* 40: 600-8.; Bournet B *et al.* (2016) *Clin Transl. Gastroenterol.* 7:e157). Однако в других случаях, таких как аденокарциномы легких, имеются противоречивые данные о прогностической ценности мутаций в этом гене (Shepherd FA *et al.* (2013) *J Clin. Oncol.* 31 (17): 2173-81; Zer A *et al.* (2016) *J Thoracic. Oncol.* 11 (13): 312-23). При опухолях толстой кишки на поздних стадиях наличие нативного KRAS является предиктором клинической пользы лечения EGFR-специфичными мАт панитумумабом и цетуксимабом. Кроме того, использование нимотузумаба (еще одного анти-EGFR антитела) в сочетании с гемцитабином обеспечивает клиническую пользу у пациентов с раком поджелудочной железы на поздних стадиях, опухоли у которых являются нативными по KRAS (Schultheis B *et al.* (2017) *Ann. Oncol.* 28: 2429-35). Однако применение цетуксимаба для лечения НМРЛ не показало клинического преимущества ни в одной из подгрупп пациентов с мутациями сигнального каскада EGFR, включая, в частности, KRAS. С другой стороны,

наличие или отсутствие мутации KRAS в опухолях само по себе не влияет на, и не обуславливает клинический ответ пациентов на анти-PD1/PDL1 мАт. В клинических исследованиях фазы III с использованием анти-PD1/PDL1 мАт при раке легких значительная клиническая польза наблюдалась у пациентов с опухолями, характеризующимися мутантным белком KRAS (Borghaei, H *et al.* (2015) *N Engl J Med.* 373 (17): 1627-1639 ; Socinski Ma *u cols.* (2018) *N Engl J Med.* 378 (24): 2288-2301). В соответствии с этими результатами недавние клинические исследования показывают, что наличие других мутаций в сочетании с мутациями KRAS (ко-мутаций) может обуславливать лучший или худший ответ у пациентов, получающих анти-PD1/PDL1 мАт. В частности, в случае аденокарцином легких, в которых KRAS мутирует совместно с геном TP53, они приводят к иммуногенным опухолям, более чувствительным к ИКТ. Напротив, ко-мутация в STK11 приводит к образованию опухоли, которая не воспаляется и более устойчива к терапии этого типа (Dong ZY *et al.* (2017) *Clin Cancer Res* 23: 3012-3024; Skoulidis F *u cols.* (2018) *Cancer Discov*; 8: 822-835).

Учитывая успех терапии, блокирующей передачу сигналов EGFR, и ИКТ, в нескольких исследованиях была оценена польза комбинированного лечения с использованием обоих подходов в разных нишах лечения с разными результатами. Несколько авторов исследовали удобство или неудобство комбинирования анти-PD1/PDL1 мАт с терапией ИТК, которая блокирует аберрантную передачу сигналов мутантными вариантами EGFR у пациентов с раком легких. Эти исследования не выявили преимуществ комбинации, со значительно возросшей токсичностью (Yang JC *et al.* (2019) *J Thorac Oncol.*; 14 (3): 553-9; Schoenfeld AJ *et al.* (2019) *Ann Oncol.* 30 (5): 839-44). Другие авторы оценивали комбинацию с нецитумабом (еще одно анти-EGFR мАт) у пациентов с раком легких. В этом исследовании токсичность была приемлемой, но без доказательств клинически значимого эффекта (Besse V *et al.* (2020) *Lung Cancer.* 142: 63-69). Ни в одном из этих исследований не сообщалось о связи со статусом молекулы KRAS.

В настоящем изобретении впервые сообщается о применении терапевтической композиции, которая сочетает использование мАт, блокирующего взаимодействие между PD1 и PDL1, и вакцинной композиции, индуцирующей выработку Ат против аутологичного человеческого EGF, у пациентов с нативной формой KRAS. Полученные результаты показывают, что терапия хорошо переносится и особенно полезна пациентам с опухолями, характеризующимися нативным KRAS. Кроме того, эта терапия приносит пользу пациентам с опухолями, отличающимся низкой экспрессией PD-L1, которые не очень чувствительны к терапии анти-PD1/PDL1 мАт.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению терапевтических композиций для лечения опухолей эпителиального происхождения. В этих композициях используют вакцинную композицию, которая вызывает продуцирование специфических Ат против EGF, и соединение, которое блокирует сигнальный путь PD1/лиганда PD1. В частности, описано применение

вышеупомянутых терапевтических композиций в случае тех опухолей эпителиального происхождения, которые экспрессируют нативную форму белка KRAS, предпочтительно те, которые имеют последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2.

В частности, вакцинные композиции, которые вызывают продуцирование Ат против EGF, содержат в качестве активного ингредиента конъюгат рекомбинантного человеческого EGF и белка-носителя. Указанный белок-носитель выбран из группы, включающей: холерный токсин В, столбнячный анатоксин, КЛН и белок р64к *Neisseria meningitidis*.

Кроме того, вакцинные композиции, вызывающие продуцирование Ат против EGF, содержат адъювант, выбранный из группы, которая включает: неполный адъювант Фрейнда, адъювант на основе сквалена, синтетического происхождения, минерального происхождения, растительного происхождения, животного происхождения, на основе фрагментированных белков и липосом.

Соединение, которое блокирует сигнальный путь PD1/лиганда PD1, выбрано из группы, которая включает анти-PD1 антитело, в число которых входят ниволумаб, пембролизумаб, MEDI0608 и пидилизумаб, а также анти-PDL1 антитело, которое может представлять собой атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб и MDX-1105.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения пациентов проверяют на наличие или отсутствие нативного KRAS в образце их опухолевых клеток. Для лечения отбирают пациентов с нативной формой KRAS. Типы опухолей, которые подвергают лечению, включают: немелкоклеточный рак легких, плоскоклеточный рак головы и шеи, уротелиальную карциному, колоректальный рак, рак желудка, рак пищевода, рак шейки матки, гепатоцеллюлярную карциному, карциному из клеток Меркеля, почечно-клеточную карциному, карциному эндометрия, рак молочной железы и рак кожи.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу стратификации пациентов на отвечающих или не отвечающих на лечение терапевтическими композициями, описанными в настоящем документе. Пациентов стратифицируют путем определения наличия или отсутствия нативного KRAS в образце опухолевых клеток, и тех, у кого обнаружено наличие нативного KRAS, будут считать отвечающими на лечение. Предпочтительно, тех пациентов, у которых образцы опухолей имеют уровень PDL1 ниже 1%, будут считать отвечающими на лечение.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

KRAS

Способы и применения согласно настоящему изобретению предусмотрены для лечения и/или стратификации пациентов, чьи эпителиальные опухоли экспрессируют белок KRAS дикого типа. Термин «KRAS дикого типа» относится к встречающимся в природе изоформам KRAS (регистрационный № Uniprot P01116, версия 246 от 7 апреля

2021 г.). Предполагается, что KRAS дикого типа содержит последовательность, соответствующую SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В частности, KRAS дикого типа может состоять из последовательности, соответствующей SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

Термин «KRAS дикого типа», как правило, также охватывает полипептиды KRAS, имеющие мутации относительно эталонной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 1 (KRAS4A) или SEQ ID NO: 2 (KRAS4B), а также охватывает полипептиды, имеющие аминокислотную последовательность, которая имеет определенную степень идентичности с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 1 (KRAS4A, регистрационный № Uniprot P01116-1) или SEQ ID NO: 2 (KRAS4B, регистрационный № Uniprot P01116-2), как описано в настоящем изобретении. Более конкретно, «KRAS дикого типа» включает полипептиды KRAS, имеющие по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентичности с SEQ ID NO: 1 (KRAS4A) или SEQ ID NO: 2 (KRAS4B). В частности, изоформы KRAS 4A и 4B охвачены термином «KRAS дикого типа». Предпочтительно, «KRAS дикого типа» не имеет мутации в своей аминокислотной последовательности в сравнении с SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2, соответственно.

Терапевтическая композиция

Настоящее изобретение относится к терапевтическим композициям для лечения рака, направленным, в частности, на блокирование целевого EGF и сигнального пути PD1/лиганда PD1. В настоящем изобретении описано эффективное применение комбинации соединений против PD1 или его лиганда PDL1 со средствами, снижающими концентрации EGF, в подгруппе пациентов с опухолями эпителиального происхождения, особенно теми опухолями, которые обычно реагируют на иммунотерапию.

В число соединений против PD1 или его лиганда входят анти-PD1 мАт, которые используют по настоящему изобретению. К таким соединениям относятся все те соединения, которые специфически связываются с рецептором PD1 на клеточной поверхности и блокируют ингибирующий путь PD1/PDL1. К числу этих анти-PD1 мАт относятся: ниволумаб, описанный в патенте США 8008449, пембролизумаб, описанный в патентах США 8354509 и 8900587, MEDI0608 (патент США 8609089), пидилизумаб (патент США 8686119) и цемиплимаб.

Все анти-PDL1 мАт, которые используют по настоящему изобретению, представляют собой те, которые специфически связываются с PDL1 и блокируют ингибирующий путь PD1/PDL1. К числу этих анти-PDL1 мАт относятся: атезолизумаб, описанный в патенте США 8217149, дурвалумаб (патент США 8779108), авелумаб, описанный в патенте США 9624298, и MDX-1105 (патент США 7943743). Кроме того, в соответствии с настоящим изобретением низкомолекулярные ингибиторы, подавляющие взаимодействие PD1/PDL1, можно комбинировать со средствами, снижающими концентрации EGF. В число этих ингибиторов входят: BMS1166, BMS202 и CA-170.

Средства, снижающие концентрации EGF, предусмотренные по настоящему

изобретению, представляют собой все те вакцинные композиции, которые вызывают продуцирование специфических Ат против аутологичного человеческого EGF. Такие Ат блокируют взаимодействие EGF с рецептором EGF, что способствует снижению и/или элиминации уровней EGF в сыворотке. Примерами таких вакцинных композиций являются все те, которые содержат в качестве активного ингредиента конъюгат рекомбинантного человеческого EGF (EGFhr) и белка-переносчика. Этим белком-переносчиком могут быть, без ограничения: холерный токсин В, столбнячный анатоксин, KLH и Р64k из *Neisseria meningitidis*. Кроме того, эти вакцинные композиции включают адъювант, выбранный из следующих: неполный адъювант Фрейнда, адъюванты на основе сквалена, синтетического происхождения, минерального происхождения, растительного происхождения, животного происхождения, на основе фрагментированных белков и липосом.

Способы идентификации и/или отбора пациентов

Принадлежность определенного пациента к популяции пациентов, подлежащих лечению способом по изобретению, можно оценивать с помощью рутинных экспериментов, известных в данной области. Например, для определения того, экспрессирует ли эпителиальная опухоль KRAS дикого типа, образец опухоли обычно получают от пациента, подлежащего оценке, и последовательность нуклеиновой кислоты KRAS, соответственно, получают из образца, амплифицируют и подвергают секвенированию. Альтернативно, присутствие гена KRAS можно обнаруживать методом полимеразной цепной реакции.

Другой метод связан с образцами плазмы или сыворотки, в которых циркулирующие опухолевые клетки с онкогеном KRAS можно обнаруживать с помощью мембранных микрочипов. В этом отношении наличие мутации KRAS в плазме или сыворотке предполагает мутацию KRAS в опухоли, тогда как отсутствие мутации KRAS в плазме или сыворотке не обязательно доказывает отсутствие аналогичной мутации в опухолевой ткани поджелудочной железы.

Дополнительно или альтернативно экспрессию KRAS дикого типа можно определять путем обнаружения мутантных и/или дикого типа полипептидов KRAS в образце опухоли, например с использованием специфических антител, связывающихся с эпитопами, специфичными для KRAS дикого типа или мутанта, соответственно. Предполагается, что для лечения отбирают пациентов с эпителиальными опухолями, экспрессирующими KRAS дикого типа, тогда как пациентов с экспрессией мутантного KRAS для лечения не отбирают.

Считается, что пациенты с эпителиальными опухолями, экспрессирующими мутантный KRAS и, в частности, KRAS, имеющий одну или более мутаций, описанных в настоящем изобретении, отвечают в меньшей степени, или не отвечают, на лечение терапевтическими композициями, используемыми в способах по настоящему изобретению. Таким образом, настоящее изобретение также относится к способу стратификации пациентов с эпителиальными опухолями. Используемый в настоящем

изобретении термин «стратификация» означает разделение пациентов с эпителиальными опухолями на тех, кто может получить пользу от лечения терапевтическими композициями по настоящему изобретению, и тех, кто может не получить пользы от лечения. Предполагается, что пациенты, чьи эпителиальные опухоли не экспрессируют KRAS дикого типа, и, в частности, пациенты, чьи эпителиальные опухоли экспрессируют мутантный KRAS, вряд ли получают пользу от лечения терапевтическими композициями, описанными в настоящем изобретении (не будут отвечать на лечение).

Напротив, пациенты, чьи опухоли ПАПЖ экспрессируют KRAS, HRAS или NRAS дикого типа, описанные в другом разделе настоящего документа, вероятно, получают пользу от лечения (будут отвечать на лечение), как описано в настоящем изобретении. Указанный KRAS «дикого типа» предпочтительно имеет последовательность, соответствующую SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

Термин «отвечающий» в контексте способа лечения, предложенного в настоящем изобретении, означает, что у пациента или опухоли наблюдают полный ответ, частичный ответ или стабилизацию заболевания после введения терапевтических композиций, описанных в настоящем изобретении, в соответствии с критериями оценки ответа в клинических испытаниях (iRECIST). Используемый в настоящем изобретении термин «не отвечающий», означает, что у пациента или опухоли наблюдают стабильное заболевание или прогрессирующее заболевание после введения терапевтических композиций, описанных в настоящем изобретении, в соответствии с iRECIST. iRECIST описан в публикации Seymour L у cols. RECIST working group (2017) Lancet Oncol. 18(3):e143-e152.

Таким образом, настоящее изобретение также относится к способу отбора пациента или группы пациентов, подлежащих лечению. Это осуществляют путем определения наличия или отсутствия мутантного и/или дикого типа KRAS в образце эпителиальной опухоли от каждого пациента. Пациентов, в чьих образцах опухолей обнаружен мутантный KRAS и/или не обнаружен KRAS дикого типа, не считают подходящими для лечения, тогда как пациентов, в чьих образцах опухолей обнаружен KRAS дикого типа и/или не обнаружен мутантный KRAS, считают подходящими кандидатами и отбирают для лечения в соответствии с изобретением.

Кроме того, как описано ранее, изобретение также относится к способу прогнозирования того, будет ли пациент, страдающий от ПАПЖ или эпителиальной опухоли, отвечать или не отвечать на лечение терапевтическими композициями, описанными в настоящем изобретении. Как указано выше, отсутствие или наличие мутантного и/или дикого типа KRAS в образце опухоли пациента можно оценивать с использованием рутинных методов, известных в данной области и описанных в других разделах настоящего документа. Экспрессия мутантного KRAS в эпителиальной опухоли указывает на то, что пациент или эпителиальная опухоль не будет отвечать на лечение, тогда как экспрессия KRAS дикого типа в эпителиальной опухоли указывает на то, что пациент будет отвечать на лечение терапевтическими композициями, описанными в настоящем изобретении.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления изобретения пациентами, отвечающими на лечение, будут пациенты, у которых экспрессируется нативный KRAS, и, в свою очередь, уровни PDL1 составляют менее 1% при измерении иммуногистохимическими методами в образцах опухолей.

Способы лечения

К числу типов рака, которые можно лечить с помощью терапевтической композиции, описанной в настоящем изобретении, без ограничения относятся: НМРЛ, плоскоклеточный рак головы и шеи, уротелиальная карцинома, колоректальный рак, рак желудка, рак пищевода, рак шейки матки, гепатоцеллюлярная карцинома, карцинома из клеток Меркеля, почечно-клеточная карцинома, карцинома эндометрия, рак молочной железы, плоскоклеточная карцинома кожи. Кроме того, изобретение охватывает рефрактерные или рецидивирующие новообразования, рост которых можно ингибировать сочетанием по изобретению.

Введение вакцинных композиций, содержащих EGF в качестве активного ингредиента, предпочтительно проводят внутримышечно; первые четыре дозы каждые 14 дней, а остальные каждые 28 дней с допустимым интервалом времени 3 дня. Диапазон доз, в котором будут использованы эти композиции, будет составлять 20-70 мкл/кг массы тела или 20-70 мкг общего количества белков на килограмм массы тела, или до 5 мг общего белка, с более рекомендуемой дозой 30-60 мкг/кг массы тела. Этап лечения будет иметь минимальную продолжительность 6 месяцев, за которым последует этап поддержания, во время которого частота введения доз и дозировка могут варьироваться в зависимости от полученных результатов. Этот период поддержания может быть оптимизирован с учетом титра продуцируемых Ат и улучшения и/или стабилизации клинических симптомов при условии, что гарантировано снижение концентрации EGF в сыворотке. Такие концентрации EGF в сыворотке можно измерять с помощью любого из коммерчески доступных для этой цели диагностических наборов.

Анти-PD1 и анти-PDL1 мАт будут введены в дозах и схемах, рекомендованных для каждого случая. В случае анти-PD1 мАт диапазон вводимых доз будет составлять 100-500 мг общего белка внутривенно с частотой раз в две-шесть недель. Анти-PDL1 мАт будут введены внутривенно в диапазоне 600-1800 мг общего белка с частотой раз в две-пять недель. Введение вакцины и мАт будет скорректировано для совпадения с действием блокирования передачи сигналов PD1/PDL1 и ингибирования передачи сигналов, опосредованной EGF. Согласно данному принципу, введение может быть одновременным или последовательным. В частности, введение вакцинной композиции может перекрываться со схемами введения мАт.

Настоящее изобретение более подробно изложено с помощью следующих далее примеров и чертежей. Однако эти примеры не следует интерпретировать как ограничение объема изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1. Титр анти-EGF Ат в сыворотке пациентов, получавших СИМAvax-EGF и

мАт ниволумаб.

Фигура 2. Уровни EGF в сыворотке пациентов, получавших CIMAvax-EGF и мАт ниволумаб.

Фигура 3. Кумулятивная выживаемость пациентов, получавших CIMAvax-EGF и ниволумаб, с течением времени у пациентов с опухолями, экспрессирующими нативный и мутантный KRAS.

Фигура 4. Кумулятивная выживаемость пациентов, получавших CIMAvax-EGF и ниволумаб, с течением времени у пациентов с опухолями с уровнем PD-L1 <1%, которые имеют нативный KRAS или мутантный KRAS.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Совместное введение CIMAvax-EGF и анти-PD1 мАт ниволумаба является безопасным и вызывает сильный ответ в виде продуцирования Ат против EGF человека.

В клиническом исследовании фазы I/II, проведенном в Комплексном онкологическом центре Розуэлл-Парк, Буффало, Нью-Йорк (NCT02955290), терапевтическую композицию, содержащую вакцинную композицию CIMAvax-EGF с анти-PD1 мАт ниволумабом, использовали для лечения пациентов с прогрессирующим НМРЛ.

В этом исследовании проводили оценку повышения дозы в фазе I и оценку эффективности в фазе II. Всего в исследование было включено 29 пациентов с метастатическим НМРЛ. Ниволумаб вводили внутривенно в дозе 240 мг каждые 2 недели. Вакцинную композицию CIMAvax-EGF вводили внутримышечно в дозе 2,4 мг каждые 2 недели во время фазы индукции (4 дозы), с последующими ежемесячными инъекциями в фазе поддержания. Первые 6 пациентов получили половину дозы CIMAvax-EGF (1,2 мг).

Профиль безопасности был благоприятным, серьезные побочные реакции, связанные с применяемой терапией, отсутствовали. Вакцина CIMAvax-EGF вызывала хороший ответ у всех пациентов, определяемый титром анти-EGF Ат, равным или превышающим 1:4000 (разведение сыворотки (Фигура 1)).

Быстрое снижение концентрации EGF в сыворотке пациентов, измеренное методом ELISA (набор Quantikine для определения EGF человека методом ELISA, R&D Systems), также наблюдали у пациентов, получавших CIMAvax-EGF и мАт ниволумаб. (Фигура 2).

Медиана общей выживаемости 29 пациентов, получавших лечение, составляла 10,36 месяца. Общая выживаемость через год составляла 44%.

Пример 2. Совместное введение CIMAvax-EGF и анти-PD1 мАт ниволумаба приносит значительную пользу пациентам с нативным KRAS.

В исследовании, описанном в примере 1, проводили анализ путем стратификации пациентов в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в гене KRAS в опухоли. Наличие или отсутствие мутаций и количество копий гена KRAS проверяли с помощью анализа секвенирования нового поколения, в котором используется многопараметрическое секвенирование ДНК методом ПЦР. Удивительно, но

выживаемость пациентов с нативным KRAS была значительно выше, чем у пациентов с мутантным KRAS (Фигура 3).

Медиана выживаемости составляла 22,06 месяца у пациентов с нативным KRAS и 10,26 месяца у пациентов с мутантным KRAS. Выживаемость через год составляла 69% у пациентов с нативным KRAS и 37% у пациентов с мутантным KRAS.

Кроме того, после комбинированной терапии у пациентов с нативным KRAS наблюдали значительное улучшение показателей контроля заболевания (пациенты по меньшей мере со стабилизацией заболевания по критериям irRECIST (Seymour L *et al.* RECIST working group (2017) *Lancet Oncol.* 18 (3): e143-e152). У пациентов с нативным KRAS показатель контроля заболевания после введения сочетания CIMAvax-EGF и ниволумаба составлял 56,3% в сравнении с 12,5% у пациентов с опухолями, имеющими мутации KRAS.

Выживаемость, наблюдаемая при комбинированной терапии у пациентов с нативным KRAS, является клинически значимой, поскольку по данным литературы стратификация по мутациям KRAS не влияет на выживаемость пациентов, получавших только мАт к ниволумабу. У этих пациентов с прогрессирующим НМПЛ монотерапия ниволумабом приводила к медиане выживаемости 11,2 и 10 месяцев у пациентов с мутантным или нативным KRAS, соответственно (Passiglia F *et al.* (2019) *Br J Cancer* 120 (1): 57-62).

Пример 3. Совместное введение CIMAvax-EGF и анти-PD1 мАт ниволумаба приносит значительную пользу пациентам, имеющим опухоли с нативным KRAS и уровень PDL1 <1%.

Учитывая опубликованные в литературе данные о более низком ответе на монотерапию анти-PD1 мАт у пациентов с низкой экспрессией PDL1 в опухоли, анализ примера 2 был повторен для пациентов, чьи опухоли не экспрессировали PDL1 (PDL1<1%). Экспрессию PDL1 определяли с использованием анализа pharmDx 28-8 для определения PDL1.

Неожиданно было обнаружено, что стратификация пациентов по мутациям KRAS вновь продемонстрировала различия в выживаемости пациентов. Медиана выживаемости составляла 22,06 месяца у пациентов с нативным KRAS и 10,26 месяца у пациентов с мутантным KRAS. Выживаемость через год была очень высокой - 80% у пациентов с нативным KRAS (Фигура 4).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение терапевтической композиции для лечения опухолей эпителиального происхождения, содержащей вакцинную композицию, которая вызывает продуцирование специфических антител (Ат) против эпидермального фактора роста (EGF), и соединение, которое блокирует сигнальный путь PD1/лиганда PD1 (PDL1).

2. Применение по п.1, где опухоли эпителиального происхождения экспрессируют форму дикого типа человеческого белка KRAS.

3. Применение по п.2, где KRAS дикого типа характеризуется тем, что имеет последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2.

4. Применение по п.1, где вакцинная композиция, вызывающая продуцирование Ат против EGF, содержит в качестве активного ингредиента конъюгат рекомбинантного человеческого EGF и белка-носителя.

5. Применение по п.4, где белок-носитель выбран из группы, состоящей из:

- В-субъединицы холерного токсина,
- столбнячного анатоксина,
- KLH и
- P64k *Neisseria meningitidis*.

6. Применение по п.5, где вакцинная композиция дополнительно содержит адъювант, выбранный из группы, состоящей из:

- неполного адъюванта Фрейнда,
- адъювантов на основе сквалена,
- адъювантов синтетического происхождения,
- адъювантов минерального происхождения,
- адъювантов растительного происхождения,
- адъювантов животного происхождения,
- адъювантов на основе фрагментированных белков и
- адъювантов на основе липосом.

7. Применение по п.1, где соединение, которое блокирует сигнальный путь PD1/PDL1, выбрано из группы, состоящей из:

- анти-PD1 Ат и
- анти- PDL1 Ат.

8. Применение по п.7, где анти-PD1 Ат выбрано из группы, состоящей из: ниволумаба, пембролизумаба, цемиплимаба, MEDI0608 и пидилизумаба.

9. Применение по п.7, где анти-PDL1 Ат выбрано из группы, состоящей из: атезолизумаба, дурвалумаба, авелумаба и MDX-1105.

10. Применение по любому из пп. 1-9, где пациентов отбирают путем определения наличия или отсутствия KRAS дикого типа в образце опухолевых клеток пациентов, при этом отбирают для лечения пациентов, в образцах опухолей которых обнаружен KRAS дикого типа.

11. Применение по любому из пп. 1-10 для лечения опухолей, выбранных из

группы, состоящей из: немелкоклеточного рака легких, плоскоклеточного рака головы и шеи, уротелиальной карциномы, колоректального рака, рака желудка, рака пищевода, рака шейки матки, печеночно-клеточной карциномы, карциномы из клеток Меркеля, почечно-клеточной карциномы, карциномы эндометрия, рака молочной железы и рака кожи.

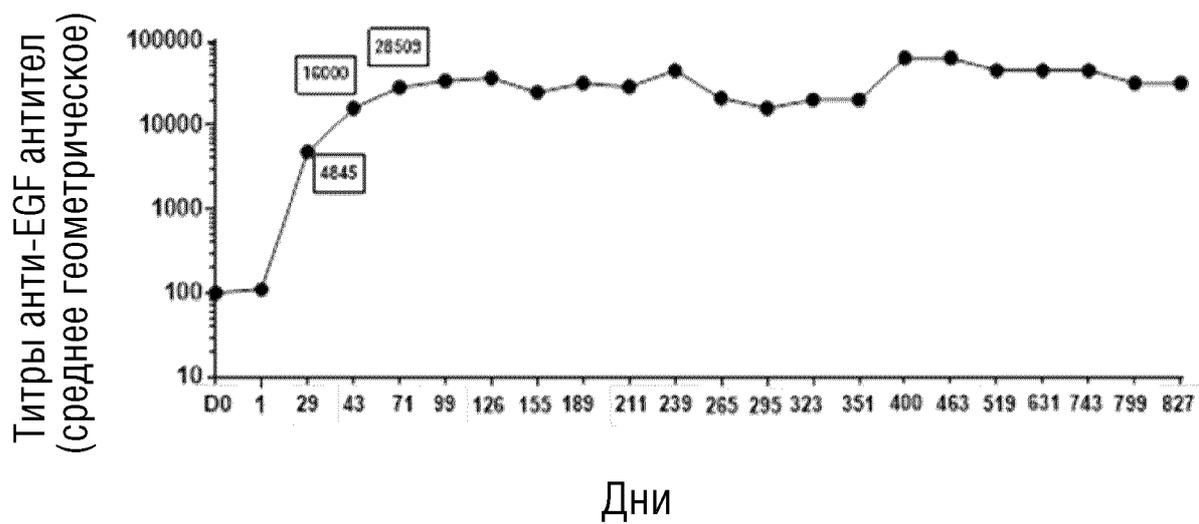
12. Способ стратификации пациентов на отвечающих или не отвечающих на лечение терапевтической композицией, содержащей соединение, которое блокирует EGF, и антитело, которое блокирует сигнальный путь PD1/PDL1, где пациента выбирают путем определения наличия или отсутствия KRAS дикого типа в образце опухолевых клеток пациента.

13. Способ по п.12, где пациентов считают отвечающими на лечение, если в образцах опухолей обнаруживают KRAS дикого типа.

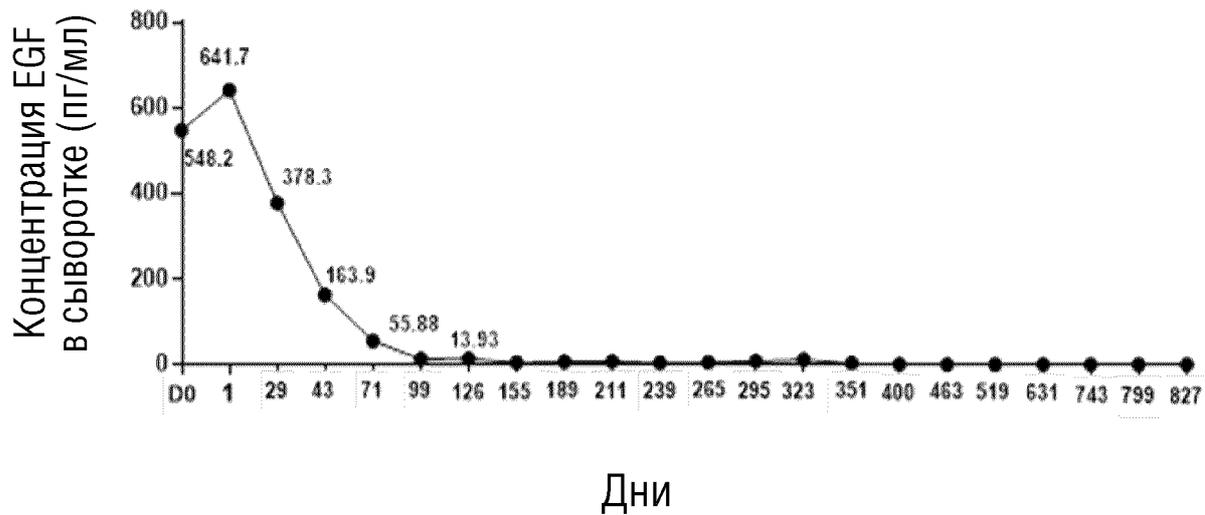
14. Способ по п.13, где в образцах опухолей пациентов уровни PDL1 составляют менее 1%.

По доверенности

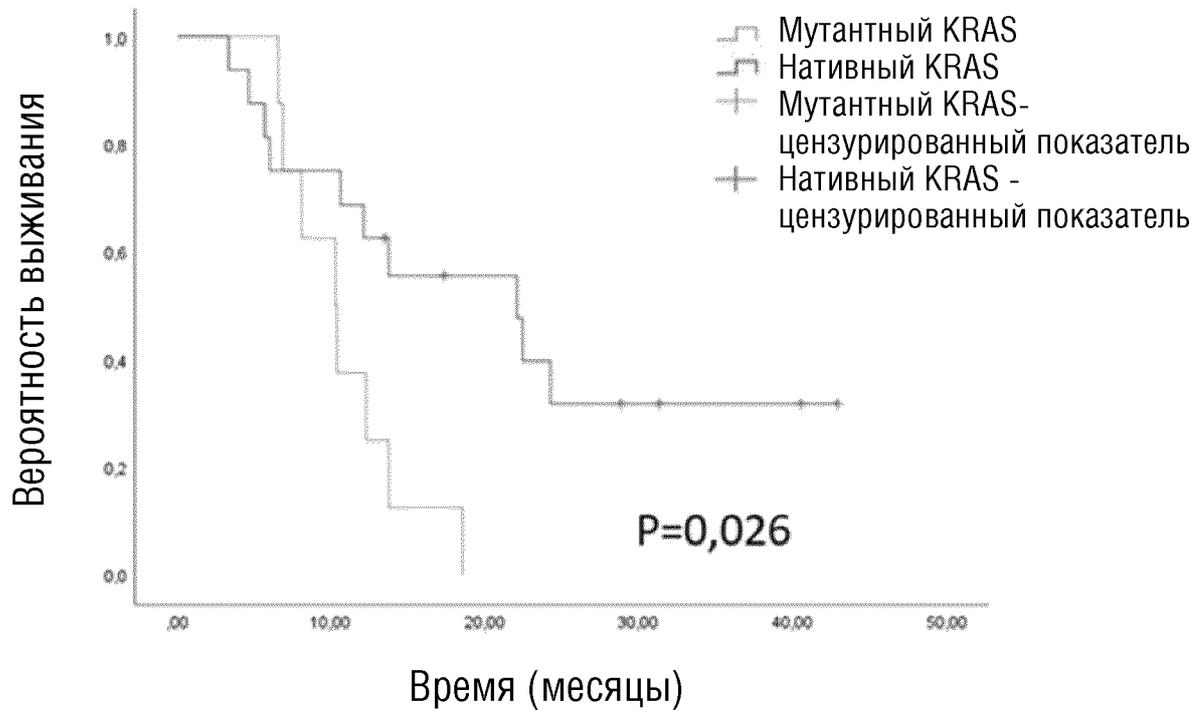
ФИГ.1



ФИГ.2



ФИГ.3



ФИГ.4

