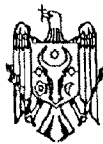




MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3377516 (13) T2

(51) Int. Cl: C07K 14/47 (2006.01.01)
C07K 14/82 (2006.01.01)
A61K 39/00 (2006.01.01)
A61P 35/02 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2018 0934 (22) Data de depozit: 2016.11.18 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16867262.4, 2016.11.18 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3377516, 2018.09.26 (31) Numărul cererii prioritare: 201562258134 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.11.20 (33) Țara cererii prioritare: US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 10/2022, 2022.10.31 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 24/2022, 2022.06.15 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 11/2018, 2018.11.30
(71) Solicitant: MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER CENTER, US (72) Inventatori: SCHEINBERG David A., US (73) Titular: MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER CENTER, US (74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela	

(54) Metode și compoziții pentru tratarea cancerului

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție oferă metode de tratament, de reducere a incidenței și de inducere a răspunsurilor imune la un cancer care exprimă WT1, prin administrarea unei combinații de cel puțin o peptidă WT1 sau de celule T citotoxice (CTL) împotriva unui cancer care exprimă WT1 și cel puțin un inhibitor al punctelor de control. Cel puțin o peptidă WT1 poate fi administrată subiectului prin administrarea unuia sau mai multor agenți subiectului, ceea ce are ca rezultat livrarea uneia sau mai multor peptide WT1 și inducerea

2

unui răspuns imunitar împotriva cancerului care exprimă WT1. Exemple de acești agenți de administrare a WT1 includ: (i) o peptidă WT1 izolată, (ii) un acid nucleic care codifică cel puțin o peptidă WT1 și (iii) o celulă imunitară care cuprinde sau prezintă cel puțin o peptidă WT1 sau acidul nucleic care codifică cel puțin o peptidă WT1.

Secvențe: 204

Revendicări: 14

MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

(54) Composition for treating cancer**(57) Abstract:**

1

This invention provides methods of treating, reducing the incidence of, and inducing immune responses to a WT1-expressing cancer, by administering a combination of at least one WT1 peptide, or cytotoxic T cells (CTLs) against a WT1-expressing cancer, and at least one checkpoint inhibitor. The at least one WT1 peptide can be administered to the subject by administering one or more agents to the subject resulting in delivery of one or more WT1 peptides and

2

induction of an immune response against the WT1-expressing cancer. Examples of these WT1 delivery agents include: (i) an isolated WT1 peptide, (ii) a nucleic acid encoding the at least one WT1 peptide, and (iii) an immune cell comprising or presenting the at least one WT1 peptide or nucleic acid encoding the at least one WT1 peptide.

Sequences: 204

Claims: 14

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIUL INVENTIEI**

- 5 Această invenție furnizează compoziții pentru utilizare în tratarea, reducerea incidenței și inducerea răspunsurilor imune împotriva unui cancer care exprimă WT1.

REZUMATUL INVENTIEI

Invenția este așa cum este definită în revendicările anexate.

- 10 Prezentă invenție furnizează combinația celor patru peptide WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RSDLVRRHHNMHQQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHRSRKHTG (SEQ ID NO: 2) și SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:125) și cel puțin un inhibitor PD1, pentru utilizare în tratarea, reducerea incidenței sau inducerea unui răspuns imun împotriva unui cancer care exprimă WT1.

- 15 Într-o variantă de realizare, peptidele WT1 sunt administrate cu un purtător, excipient sau diluant, sau un adjuvant cum ar fi QS21, Montanide, adjuvantul Freund complet sau incomplet, fosfat de aluminiu, hidroxid de aluminiu, BCG, o citokină sau alaun.

Într-o variantă de realizare, inhibitorul PD1 este nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab sau MEDI0680 (AMP-514).

- 20 Într-o variantă de realizare, una sau mai multe dintre peptidele WT1 sunt administrate separat.

Într-o variantă de realizare, două sau mai multe dintre peptidele WT1 sunt administrate împreună în cadrul aceleiași formulări.

Într-o variantă de realizare, peptidele WT1 și inhibitorul PD1 sunt prezente în aceeași compoziție.

- 25 Într-o variantă de realizare, peptidele WT1 și inhibitorul PD1 sunt administrate concomitent, sau într-un program suprapus, sau în care ultima administrare a peptidelor WT1 precede prima administrare a inhibitorului PD1.

- 30 Într-o variantă de realizare, cancerul este cancer ovarian, mezoteliom, leucemie, tumoră Wilms, leucemie mielogenă acută (LMA), leucemie mieloidă cronică (LMC), sindrom mielodisplazic (SMD), melanom, cancer de stomac, cancer de prostată, cancer biliar, cancer al sistemului urinar, glioblastom, sarcom de țesut moale, osteosarcom sau cancer pulmonar fără celule mici (NSCLC).

- 35 Într-o variantă de realizare, una sau mai multe dintre peptide NLMNLGATL (SEQ ID NO:21), WNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:26), LVRHHNMHQQRNMTKL (SEQ ID NO:3), NKRYFKLSHLQMHRSR (SEQ ID NO:4), SGQARMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:5), QARMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:6), RMFPNAPYL (SEQ ID NO:7), SLGEQQYSV (SEQ ID NO:8), ALLPAVPSL (SEQ ID NO:9), NLGATLKGV (SEQ ID NO:10), DLNALLPAV (SEQ ID NO:11), GVFRGIQDV (SEQ ID NO:12), KRYFKLSHL (SEQ ID NO:13), ALLLRTPYS (SEQ ID NO:14), CMTWMQMNL (SEQ ID NO:15), NMHQQRNMTK (SEQ ID NO:16), QMNLGATLK (SEQ ID NO:17), FMCAYPGCNK (SEQ ID NO:18), KLSHLQMHRSR (SEQ ID NO:19), QAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:126), YLGEQQYSV (SEQ ID NO:127), YLLPAVPSL (SEQ ID NO:128), YLGATLKGV (SEQ ID NO:129), YLNALLPAV (SEQ ID NO:130), GLRRGIQDV (SEQ ID NO:131), KLYFKLSHL (SEQ ID NO:132), ALLLRTPYV (SEQ ID NO:133), YMTWNQMNL (SEQ ID NO:134), NMYQRNMTK (SEQ ID NO:135), NMHQVRMTK (SEQ ID NO:136), NMYQVRMTK (SEQ ID NO:137), QMYLGATLK (SEQ ID NO:138), QMNLGVTLK (SEQ ID NO:139), QMYLGVTLK (SEQ ID NO:140), FMYAYPGCNK (SEQ ID NO:141), FMCAYPFCNK (SEQ ID NO:142), FMYAYPFCNK (SEQ ID NO:143), KLYHLQMHRSR (SEQ ID NO:144), KLSHLQMHRSK (SEQ ID NO:145), KLYHLQMHRSK (SEQ ID NO:146), NQMNLGATL (SEQ ID NO:20), NYMNLGATL (SEQ ID NO:22), CMTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:23), CMTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:24), WNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:25), MTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:27), TWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:28), MTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:30), TWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:31), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO:33), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:34), CMTWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:35), WNQMNLGAT (SEQ ID NO:36), TWNQMNLGA (SEQ ID NO:37), MTWNQMNLG (SEQ ID NO:38), CMTWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:39), WNLMNLGAT (SEQ ID NO:40), MNLGATLK (SEQ ID NO:41), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:43), GALRNPTAC (SEQ ID NO:46), GYLRNPTAC (SEQ ID NO:47), GALRNPTAL (SEQ ID NO:48), YALRNPTAC (SEQ ID NO:49), GLLRNPTAC (SEQ ID NO:50), RQRPHPGAL (SEQ ID NO:51), RYRPHPGAL (SEQ ID NO:52), YQRPHPGAL (SEQ ID NO:53), RLRPHPGAL (SEQ ID NO:54), RIRPHPGAL (SEQ ID NO:55), QFPNHSFKHEDPMGQ (SEQ ID NO:61), HSFKHEDPM (SEQ ID NO:63), HSFKHEDPY (SEQ ID NO:64), HSFKHEDPK (SEQ ID NO:65), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ ID NO:66), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:67), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:68), FMCAYPGCN

(SEQ ID NO:69), FMCAYPGCY (SEQ ID NO:70), și FMCAYPGCK (SEQ ID NO:71) sunt de asemenea administrate.

Într-o variantă de realizare, 200 mcg din fiecare peptidă sunt emulsionate cu Montanide ISA 51 VG și administrate subcutanat în săptămânile 0, 2, 4, 6, 8 și 10.

Într-o variantă de realizare, 3 mg/kg de nivolumab sunt administrate intravenos în săptămânile 0, 2, 4, 6, 8, 10 și 12.

Într-o variantă de realizare, tratarea, reducerea incidenței sau inducerea unui răspuns imun împotriva unui cancer care exprimă WT1 este mai mare decât se realizează prin administrarea peptidelor WT1 singure sau a cel puțin un inhibitor PD1 singur.

Prezenta invenție oferă, de asemenea, o compoziție care cuprinde cele patru peptide WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RDELVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) și SGQAYMFPNAPYLPSCL (SEQ ID NO:125) și cel puțin un inhibitor PD1.

Într-o variantă de realizare, inhibitorul PD1 este nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab sau MEDI0680 (AMP-514).

DESCRIEREA DETALIATĂ A INVENȚIEI

Cancerul ovarian este una dintre cele mai frecvente afecțiuni ginecologice maligne și a cincea cea mai frecventă cauză de deces prin cancer la femeile din Statele Unite. Peste 22.000 de cazuri sunt diagnosticate anual și există aproximativ 15.500 de decese pe an [1]. Majoritatea pacienților au boală larg răspândită la prezentare [2]. Supraviețuirea la 5 ani pentru boala în stadiu avansat rămâne mai mică de 30% [1]. Deși o remisie clinică completă după chimioterapia inițială poate fi anticipată pentru mulți pacienți, o revizuire a laparotomiei la o a doua privire atunci când aceasta a fost adesea efectuată ca o chestiune de îngrijire de rutină indică faptul că mai puțin de 50% dintre pacienți nu suferă de boală [3]. În plus, aproape jumătate dintre pacienții cu o procedură la o a doua privire negativă recidivează și necesită tratament suplimentar [4]. Mulți pacienți vor obține un al doilea răspuns clinic complet cu chimioterapie suplimentară. Cu toate acestea, aproape toți pacienții vor recidiva după un interval scurt de remisiune de 9-11 luni. [5]. Sunt necesare strategii eficiente de prelungire a remisiunii sau de prevenire a recidivelor, deoarece remisiunile ulterioare sunt de o durată progresiv mai scurtă până când rezistența la chimioterapie se dezvoltă pe scară largă [2].

S-a demonstrat că atât anticorpilor, cât și efectorii celulelor T oferă beneficii în modelele de cancer ovarian. S-a observat că anticorpilor reduc invazia tisulară timpurie [6]. Modelele preclinice au demonstrat, de asemenea, clearance-ul celulelor tumorale circulante și eliminarea micrometastazelor sistemice prin utilizarea atât a anticorpilor administrați pasiv, cât și a anticorpilor induși de vaccin. În ceea ce privește efectorii celulelor T, s-a demonstrat că un răspuns imunitar activat la nivel global este asociat cu un rezultat clinic îmbunătățit la pacienții cu cancer ovarian avansat. Zhang și colab. au arătat că prezența celulelor T care infiltrează tumora în insulele celulelor tumorale a fost asociată cu îmbunătățirea atât a supraviețuirii fără progresie, cât și a supraviețuirii globale [7]. În schimb, infiltrarea celulelor T-regulatoare conferă un prognostic mai rău [8].

Datele la pacienții cu cancer ovarian în a doua remisie sau mai mare le confirmă recidiva într-un mod previzibil [9]. În ultimii ani, cancerul ovarian a fost vizat de o varietate de abordări noi bazate pe sistemul imunitar. Terapia cu anticorpi a inclus oregovomab [10] care este o terapie cu anticorpi monoclonali care țintește antigenul CA125; abagovomab [11] care este un anticorp anti-idiotipic care țintește CA-125; și trastuzumab [12] care este un anticorp monoclonal umanizat anti-HER2. Alte strategii au inclus terapia cu citokine, cum ar fi interferon- γ [13, 14] și IL-2 [15]. Au fost de asemenea evaluate imunizarea activă cu alți antigene, cum ar fi Lewis y [16], MUC1 [17], peptida restricționată HLA NY-ESO-1b [18] și conjugatul KH-1-KLH. Strategiile anterioare au fost ineficiente și sunt necesare noi modalități terapeutice pentru a crește eficacitatea terapiei pentru ovare, precum și pentru numeroase alte tipuri de cancer care sunt tratate ineficient cu terapiile disponibile în prezent.

WT1 se referă la tumora Wilms 1 sau produsul genic al genei WT1. Gena supresoare a tumorii Wilms, WT1, a fost identificată pentru prima dată în tumorile renale în copilărie, dar WT1 este, de asemenea, foarte exprimată în mai multe alte tumori maligne hematologice și tumori solide, inclusiv mezoteliom [19, 20]. WT1 a fost identificat inițial prin maparea ADNc la o regiune a cromozomului 11p13. ADNc WT1 codifică o proteină care conține patru degete de zinc Kruppel și conține un model complex de îmbinare alternativă, rezultând patru factori de transcripție diferiți. Fiecare izoformă WT1 are diferite activități transcripționale și de legare la ADN [21] și poate regla pozitiv sau negativ diverse gene implicate în proliferarea celulară, diferențierea, apoptoza, dezvoltarea organelor și determinarea sexului. WT1 este exprimat în mod normal în țesuturile de origine mezodermică în timpul embriogenezei, inclusiv rinichi, gonade, inimă, mezoteliu și splină [22]. În țesuturile adulte normale, expresia WT1 este limitată la niveluri scăzute în nucleele celulelor stem hematopoietice normale CD34+, celulele progenitoare mioepiteliale, podocite renale și unele celule din testicul și ovar [23]. WT1 este foarte omolog la șoareci

și oameni (96% la nivel de aminoacizi) și are distribuție și funcție similară în țesut [24, 25]. Deși inițial descrise ca o genă supresoare de tumoră, proteinele WT1 par să fie implicate în tumorigeneză.

Expresia puternică a proteinei WT1 în cancerul ovarian, împreună cu mecanismul său de acțiune propus, o face o țintă rațională pentru imunoterapie, printre multe alte tipuri de cancer care exprimă și proteina WT1, cum ar fi mezoteliom, leucemie, tumoră Wilms, leucemie mielogenă acută (LMA), leucemie mieloidă cronică (LMC), sindrom mielodisplazic (SMD), melanom, cancer de stomac, cancer de prostată, cancer biliar, cancer al sistemului urinar, glioblastom, sarcom de țesut moale, osteosarcom și cancer pulmonar fără celule mici (NSCLC). În cancerul ovarian, expresia este atât de frecventă încât patologii folosesc în mod obișnuit colorații imunohistochimice pentru WT1 (cu o convenție standardizată pentru descrierea expresiei și determinarea ca „pozitive” sau „negative” pentru a ajuta la distingerea cancerelor ovariene epiteliale de alte tumori. WT1 este un marker deosebit de sensibil și specific pentru cancerul ovarian seros [26]. Micro-rețelele de țesut ovarian sugerează că 70-80% dintre cancerelor ovariene seroase exprimă WT1, astfel încât majoritatea pacienților vor avea ținta și vor fi eligibile pentru participarea la studiu. S-a demonstrat că vaccinarea cu patru peptide sintetice derivate din WT1 induce răspunsuri celulelor T la pacienții cu remisie completă din leucemia mieloidă acută [60].

Într-un aspect, prezenta invenție furnizează combinația dintre (a) cele patru peptide WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) și SGQAYMFPNAPYLPSCL (SEQ ID NO:125) și (b) cel puțin un inhibitor al anticorpului PD1, pentru utilizare în tratarea, reducerea incidenței sau inducerea unui răspuns imun împotriva unui cancer care exprimă WT1.

Peptidele WT1 RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1) și PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO:2) sunt peptide native care sunt fragmente ale proteinei WT1.

Peptidele native WT1 sunt descrise în WO2005053618, WO2007047764 și WO2007120673.

Peptidele WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124) și SGQAYMFPNAPYLPSCL (SEQ ID NO:125) sunt fragmente de peptide WT1 modificate care conțin una sau mai multe modificări heteroclitice pentru a spori imunogenitatea împotriva secvenței peptidice native.

Peptidele WT1 modificate sunt descrise în WO2005053618, WO2007047764 și WO2007120673.

Într-o variantă de realizare, peptidele pot fi administrate în combinație cu un purtător, diluant sau excipient. Într-o variantă de realizare, peptidele sunt administrate în combinație cu un adjuvant. Fiecare peptidă poate fi administrată cu un adjuvant diferit sau o combinație de adjuvanți sau peptidele pot fi administrate într-o combinație de două sau mai multe peptide, cu un adjuvant sau combinație de adjuvanți. Imunogenul sau compoziția care conține una sau mai multe peptide poate fi denumită aici un vaccin, un vaccin peptidic, un vaccin WT1 și altele asemenea.

Adjuvantul poate fi de orice clasă, cum ar fi săruri de alaun și alți adjuvanți minerali, produse bacteriene sau adjuvanți derivați de bacterii, agenți tensoactivi (de exemplu, saponine), emulsii de ulei în apă (o/w) și apă în ulei (w/o), adjuvanți lipozomi, citokine (de exemplu, IL-2, GM-CSF, IL-12 și IFN-gamma) și analogi de alfa-galactosilceramidă. Exemple nelimitative de adjuvanți includ emulsii Montanide, QS21, adjuvantul Freund complet sau incomplet, fosfat de aluminiu, hidroxid de aluminiu, Bacil Calmette-Guerin (BCG) și alaun. Într-o variantă de realizare, adjuvantul este un agent care îmbunătățește răspunsul CTL al sistemului imunitar împotriva peptidei WT1, cum ar fi surfactantul monooleat de manidă care conține acid oleic de calitate vegetală (VG) derivat din ulei de măsline (emulsie w/o Montanide ISA 51 VG). Adjuvantul poate fi administrat în aceeași compoziție ca una sau mai multe peptide WT1, sau în aceeași compoziție ca cel puțin un inhibitor PD1, sau în aceeași compoziție ca și una sau mai multe peptide WT1 și cel puțin un inhibitor PD1, sau într-o compoziție separată de una sau mai multe peptide WT1 și cel puțin un inhibitor PD1.

Într-o variantă de realizare, una sau mai multe alte peptide pot fi utilizate împreună cu combinația menționată mai sus a celor patru peptide: YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) și SGQAYMFPNAPYLPSCL (SEQ ID NO:125) pentru scopurile de aici.

Astfel, într-o variantă de realizare, una sau mai multe dintre peptide NLMLNGATL (SEQ ID NO:21), WNLMLNGATLKGVA (SEQ ID NO:26), LVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:3), NKRYFKLSHLQMHSR (SEQ ID NO:4), SGQARMFPNAPYLPSCL (SEQ ID NO:5), QARMFPNAPYLPSCL (SEQ ID NO:6), RMFPNAPYL (SEQ ID NO:7), SLGEQQYSV (SEQ ID NO:8), ALLPAVPSL (SEQ ID NO:9), NLGATLKGV (SEQ ID NO:10), DLNALLPAV (SEQ ID NO:11), GVFRGIQDV (SEQ ID NO:12), KRYFKLSHL (SEQ ID NO:13), ALLLRTPYS (SEQ ID NO:14), CMTWMQMNL (SEQ ID NO:15), NMHQRNMTK (SEQ ID NO:16), QMLNGATLK (SEQ ID NO:17), FMCAYPGCNK (SEQ ID NO:18), KLSHLQMHSR (SEQ ID NO:19), QAYMFPNAPYLPSCL (SEQ ID NO:126), YLGEQQYSV (SEQ ID NO:127), YLLPAVPSL (SEQ ID NO:128), YLGATLKGV (SEQ ID NO:129), YLNALLPAV (SEQ ID NO:130), GLRRGIQDV (SEQ ID NO:131), KLYFKLSHL

(SEQ ID NO:132), ALLLRTPYV (SEQ ID NO:133), YMTWNQMN (SEQ ID NO:134), NMYQRNMTK (SEQ ID NO:135), NMHQRVMTK (SEQ ID NO:136), NMYQRVMTK (SEQ ID NO:137), QMYLGATLK (SEQ ID NO:138), QMNLGVTLK (SEQ ID NO:139), QMYLGVTLK (SEQ ID NO:140), FMYAYPGCNK (SEQ ID NO:141), FMCAYPGCNK (SEQ ID NO:142), FMYAYPGCNK (SEQ ID NO:143), KLYHLQMHSR (SEQ ID NO:144), KLSHLQMHSK (SEQ ID NO:145), KLYHLQMHSK (SEQ ID NO:146), NQMNLGATL (SEQ ID NO:20), NYMNLGATL (SEQ ID NO:22), CMTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:23), CMTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:24), WNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:25), MTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:27), TWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:28), MTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:30), TWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:31), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO:33), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:34), CMTWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:35), WNQMNLGATL (SEQ ID NO:36), TWNQMN (SEQ ID NO:37), MTWNQMNLG (SEQ ID NO:38), CMTWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:39), WNL (SEQ ID NO:40), MNLGATLKG (SEQ ID NO:41), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:43), GALRNPTAC (SEQ ID NO:46), GYLRNPTAC (SEQ ID NO:47), GALRNPTAL (SEQ ID NO:48), YALRNPTAC (SEQ ID NO:49), GLLRNPTAC (SEQ ID NO:50), RQRPHPGAL (SEQ ID NO:51), RYRPHPGAL (SEQ ID NO:52), YQRPHPGAL (SEQ ID NO:53), RLRPHPGAL (SEQ ID NO:54), RIRPHPGAL (SEQ ID NO:55), QFPNHSFKHEDPMGQ (SEQ ID NO:61), HSFKHEDPM (SEQ ID NO:63), HSFKHEDPY (SEQ ID NO:64), HSFKHEDPK (SEQ ID NO:65), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ ID NO:66), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:67), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:68), FMCAYPGCN (SEQ ID NO:69), FMCAYPGCY (SEQ ID NO:70), FMCAYPGCK (SEQ ID NO:71) sunt de asemenea administrate.

Într-o altă variantă de realizare, una sau mai multe peptide WT1 native sau modificate dintre cele dezvăluite în WO2014113490, cum ar fi NQMNLGATL (SEQ ID NO:147), NLMNLGATL (SEQ ID NO:148), NYMNLGATL (SEQ ID NO:149), CMTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:150), CMTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:151), WNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:152), WNL (SEQ ID NO:153), MTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:154), TWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:155), MTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:157), TWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:158), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO:160), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:161), CMTWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:162), WNQMNLGATL (SEQ ID NO:163), TWNQMN (SEQ ID NO:164), MTWNQMNLG (SEQ ID NO:165), CMTWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:166), WNL (SEQ ID NO:167), MNLGATLKG (SEQ ID NO:168), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:170), GALRNPTAC (SEQ ID NO:173), GYLRNPTAC (SEQ ID NO:174), GALRNPTAL (SEQ ID NO:175), YALRNPTAC (SEQ ID NO:176), GLLRNPTAC (SEQ ID NO:177), RQRPHPGAL (SEQ ID NO:178), RYRPHPGAL (SEQ ID NO:179), YQRPHPGAL (SEQ ID NO:180), RLRPHPGAL (SEQ ID NO:181), RIRPHPGAL (SEQ ID NO:182), QFPNHSFKHEDPMGQ (SEQ ID NO:188), HSFKHEDPM (SEQ ID NO:190), HSFKHEDPY (SEQ ID NO:191), HSFKHEDPK (SEQ ID NO:192), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ ID NO:194), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:194), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:195), FMCAYPGCN (SEQ ID NO:196), FMCAYPGCY (SEQ ID NO:197) sau FMCAYPGCK (SEQ ID NO:198) sunt de asemenea administrate.

Fiecare peptidă a unei combinații poate fi administrată separat în cadrul propriei formulări sau două, trei, patru, cinci sau mai multe peptide ale unei combinații pot fi administrate împreună în cadrul aceleiași formulări.

Nivelul de doză sau fiecare peptidă, frecvența de administrare a fiecăreia sau a combinațiilor de peptide, durata administrării și alte aspecte ale imunizării cu peptide WT1 pot fi optimizate în conformitate cu prezentarea clinică a pacientului, durata sau cursul bolii, comorbidități și alte aspecte ale îngrijirii clinice.

Într-o variantă de realizare, vaccinul WT-1 cuprinde 280 mcg din fiecare dintre cele patru peptide menționate mai sus (YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO:2) și SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:125)) combinate într-un volum total de 0,7 ml (0,4 mg/ml din fiecare peptidă). Într-o variantă de realizare, se administrează 200 mcg din fiecare peptidă la fiecare doză (0,5 ml). Într-o variantă de realizare, se administrează 100 până la 2000 mcg din fiecare peptidă la fiecare doză. Într-o variantă de realizare, doza de mai sus este administrată la două săptămâni pe o perioadă de 10 săptămâni (adică, 6 administrări). Într-o variantă de realizare, administrarea este subcutanată. Într-o variantă de realizare, un adjuvant este amestecat (emulsionat) cu vaccinul înainte de dozare. Într-o variantă de realizare, 0,5 ml de vaccin (adică 200 mcg din fiecare peptidă) sunt emulsionați cu 1,0 ml de adjuvant înainte de administrare. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este injectat în același situs ca și vaccinul, înainte sau după ce vaccinul este injectat. Într-o variantă de realizare, adjuvantul este o emulsie. Într-o variantă de realizare, emulsia este o emulsie Montanide. Într-o variantă de realizare, emulsia Montanide este adjuvantul

imunologic Montanide ISA 51 VG. În practica invenției, un inhibitor PD1 este de asemenea administrat la subiect cu vaccinul WT1, așa cum este descris mai jos.

Inhibitorul PD1 este un inhibitor al checkpoint imunitar. Checkpoint imunitar reglează funcția celulelor T în sistemul imunitar. Celulele T joacă un rol central în imunitatea mediată de celule. Proteinele checkpoint interacționează cu liganzi specifici care trimit un semnal în celulele T și, în esență, opresc sau inhibă funcția celulelor T. Celulele canceroase profită de acest sistem conducând niveluri ridicate de exprimare a proteinelor checkpoint pe suprafața lor, ceea ce are ca rezultat controlul celulelor T care exprimă proteinele checkpoint pe suprafața celulelor T care intră în micromediul tumoral, suprimând astfel răspunsul imun anticancer. Ca atare, inhibarea proteinelor checkpoint ar avea ca rezultat restabilirea funcției celulelor T și un răspuns imun la celulele canceroase. Un inhibitor al checkpoint imunitar (sau un inhibitor al checkpoint) este un compus sau un agent care blochează sau inhibă proteinele checkpoint imunitar (adică, care blochează sau inhibă receptorii checkpoint sau liganzii receptorului checkpoint). Alte proteine checkpoint includ CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, IDO, KIR, 2B4 (aparține familiei CD2 de molecule și este exprimat pe toate celulele NK și celulele T CD8⁺ de memorie), CD160 (denumit și BY55), CGEN-15049, kinazele CHK 1 și CHK2, A2aR și diverși liganzi din familia B-7.

Moartea Programată-1 (PD-1) este un membru al superfamiliei imunoglobulinelor (IGSF) a moleculelor implicate în reglarea activării celulelor T. PD-1 și-a dobândit numele de „moarte programată” când a fost identificat în 1992 ca o genă reglată pozitiv în hibridomul celulelor T care suferă moartea celulară. Structura PD-1 este compusă dintr-un domeniu IGSF, un domeniu transmembranar și un domeniu intracelular care conține un motiv inhibitor pe bază de tirozină imunoreceptor (ITIM) și un motiv comutator pe bază de tirozină imunoreceptor (ITSM) [38]. PD-1 are doi parteneri obligatorii: PD-L1 (B7-H1, CD274) și PD-L2 (B7-DC, CD273). PD-L1 este exprimat pe scară largă atât pe liniile hematopoietice, cât și pe cele non-hematopoietice [39, 40]. Se găsește pe celulele T, celulele B, macrofagele, celulele NK, DC și celule mastocitare, precum și în țesuturile periferice. [41, 42]. Angajamentul PD-1 reprezintă un mijloc prin care tumorile eludează imunosupravegherea și clearance-ul [43]. Blocarea căii PD-1 a fost demonstrată de nivolumab, care prezintă activitate în modelele de cancer de soarece imunocompetenți [44].

În această invenție, inhibitorul checkpoint PD1 este un anticorp. Exemple de anticorpi includ nivolumab (OPDIVO), pembrolizumab (KEYTRUDA), pidilizumab (CT-011) și MEDI0680 (AMP-514).

Nivolumab (OPDIVO) este un anticorp monoclonal IgG4 complet uman țintit împotriva receptorului PD-1 pe limfocitele T și B activate [47]. Pembrolizumab (KEYTRUDA) este un alt exemplu de anticorp care țintește PD-1. Exemple de inhibitori PD1 sunt enumerate în Tabelul 1. Exemple de alți inhibitori ai checkpoint sunt enumerate în Tabelul 2.

Tabelul 1. Exemple de inhibitori PD1

Nume	Clasa de Agent	Țintă
Nivolumab (cunoscut sub numele de ONO-4538; BMS-936558; MDX1106; comercializat ca Opdivo)	mAb uman IgG4	Moarte programată-1 (PD-1)
Pembrolizumab (cunoscut sub numele de, MK-3475; Iambrolizumab; comercializat ca Keytruda)	mAb umanizat IgG4	PD-1
Pidlizumab (cunoscut sub numele de CT-011)	mAb umanizat IgG1	PD-1
MEDI0680 (cunoscut sub numele de AMP-514)	mAb umanizat IgG4	PD-1
AMP-224	Proteina de fuziune Fc-PD-L2	PD-1
AUNP-12	Peptidă ramificată, cu 29 de aminoacizi	PD-1

Tabelul 2: Exemple de Alți Inhibitori ai Checkpoint

Nume	Clasa de Agent	Țintă
Ipilimumab (cunoscut sub numele de MDX-010; MDX-101; BMS-734016; comercializat ca Yervoy)	mAb uman IgG1	Antigenul citotoxic al limfocitelor T 4 (CTLA-4)
Tremelimumab (cunoscut sub numele de ticilimumab; CP-675-206)	mAb uman IgG2	CTLA-4
BMS-936559	mAb uman IgG4	Ligand de moarte programată-1

Nume	Clasa de Agent	Tintă
		(PD-L1)
Atezolizumab (cunoscut sub numele de MPDL3280A; RG7446)	mAb umanizat IgG1	PD-L1
Durvalumab (cunoscut sub numele de MEDI4736)	mAb uman IgG1	PD-L1
Avelumab (cunoscut sub numele de MSB0010718C)	mAb uman IgG1	PD-L1
BMS935559 (cunoscut sub numele de MDX-1105)	mAb uman IgG4	PD-L1
rHIgM12B7	mAb uman IgM	Ligand de moarte programată-2 (PD-L2)
BMS-986016	mAB	Gena de activare a limfocitelor-3 (LAG-3; cunoscut sub numele de CD223)
GSK2831781	mAb afuscat umanizat	LAG-3
IMP321	LAG-3 solubil	LAG-3
Lirilumab (cunoscut sub numele de BMS-986015)	mAb uman IgG4	Receptor asemănător imunoglobulinei celulei killer (KIR)
IPH2101 (cunoscut sub numele de 1-7F9)	Ab monoclonal anti-inhibitor	KIR
Indoximod (cunoscut sub numele de NLG 9189; CAS # 110117-83-4)	Moleculă mică (Izomerul D al 1-metil-triptofanului)	Indoleamin-2,3-dioxigenaza 1 (IDO1)
NLG 919 (CAS # 1402836-58-1)	Moleculă mică	IDO1
INCB024360 (CAS # 914471-09-3)	Moleculă mică	IDO1
PF-05082566	mAB uman IgG2	4-1BB (cunoscut sub numele de CD137)
Urelumab (cunoscut sub numele de BMS-663513)	mAb umanizat IgG4	4-1BB
MEDI6469	IgG1 antiuman de șoarece Ab	OX40 (cunoscut sub numele de CD134)

Într-o variantă de realizare, subiectului i se administrează o combinație de doi sau mai mulți inhibitori ai checkpoint. Într-o variantă de realizare, combinația de inhibitori este selectată dintre cei din Tabelele 1 și 2. Cei doi sau mai mulți inhibitori pot fi administrați simultan sau consecutiv unul față de celălalt și în raport cu peptidele WT1. Astfel, doi sau mai mulți inhibitori ai checkpoint care țintește două proteine checkpoint diferite, cum ar fi PD-1 (de exemplu, nivolumab sau alt inhibitor de anticorpi PD-1) și CTLA-4 (de exemplu, ipilimumab sau alt inhibitor de CTLA-4), pot fi administrați la subiect simultan sau consecutiv unul față de celălalt și față de una sau mai multe peptide WT1.

Nivelul dozei, frecvența dozării, durata dozării și alte aspecte ale administrării inhibitorului checkpoint pot fi optimizate în conformitate cu prezentarea clinică a pacientului, durata sau cursul bolii, comorbiditățile și alte aspecte ale îngrijirii clinice.

Într-o variantă de realizare, se utilizează o doză de nivolumab și o selecție de schemă de 3 mg/kg la fiecare 2 săptămâni pe o perioadă de 12 săptămâni. Într-o variantă de realizare, administrarea este intravenoasă. Într-o variantă de realizare, cursul administrării inhibitorului PD1 este concomitent cu cel al administrării vaccinului WT1. Într-o variantă de realizare, cursul administrării inhibitorului PD1 se suprapune cu cel al administrării vaccinului WT1. Într-o variantă de realizare, cursul administrării inhibitorului PD1 începe aproximativ în același timp cu cursul administrării vaccinului WT1.

Într-o variantă de realizare, vaccinul WT1 cuprinde 200 mcg din fiecare dintre peptidele YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RDELVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) și SGQAYMFPNAPYLPSCLLES (SEQ ID NO:125) combinate într-un volum total de 0,5 ml emulsionat cu 1,0 ml Montanide ISA 51 VG și administrat subcutanat la fiecare 2 săptămâni timp de 6 administrări; și nivolumab, 3 mg/kg, se administrează intravenos prin perfuzie de 60 de minute la fiecare două săptămâni timp de 7 administrări, începând cu vaccinul WT1.

Într-o variantă de realizare, una sau mai multe peptide WT1 și unul sau mai mulți inhibitori de anticorpi PD1 sunt fiecare administrat la un subiect conform unui program care beneficiază maxim pacientul. Una sau mai multe peptide WT1 și unul sau mai mulți inhibitori PD1 nu sunt, prin urmare, administrate în mod necesar în același timp sau chiar în aceeași compoziție sau fiecare pentru aceeași durată. Fiecare peptidă WT1 poate fi administrată în conformitate cu un program particular, la fel ca fiecare inhibitor PD1. Într-o variantă de realizare nelimitator, una sau mai multe peptide WT1 și unul sau mai mulți inhibitori PD1 sunt prezenți în aceeași compoziție.

După cum s-a menționat aici, nivelul dozei și programul de dozare incluzând frecvența și durata peptidei sau peptidelor WT1 (separat sau administrate împreună) și cea a unuia sau mai multor inhibitori PD1 (administrați separat sau împreună), calea de administrare și alte aspecte de administrare sunt optimizate pentru un beneficiu maxim pentru pacientul subiect.

Într-un alt aspect, prezenta invenție oferă, de asemenea, o compoziție care cuprinde cele patru peptide YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RDELVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) și SGQAYMFPNAPYLPSCLLES (SEQ ID NO:125) și cel puțin un inhibitor al anticorpului PD1. Într-o variantă de realizare, compoziția cuprinde nivolumab, pembrolizumab sau combinația acestora. Compoziția mai poate cuprinde un excipient, diluant sau purtător. Compoziția poate cuprinde, de asemenea, unul sau mai mulți adjuvanți.

Variantele de realizare de mai sus furnizează compoziții îmbunătățite pentru utilizare în tratarea, reducerea incidenței și inducerea răspunsurilor imune împotriva unui cancer care exprimă WT1.

Într-o variantă de realizare, compozițiile menționate mai sus pentru utilizare în tratarea unui cancer care exprimă WT1, reducerea incidenței unui cancer care exprimă WT1 sau inducerea formării și proliferării unui răspuns celulelor T specifice proteinei WT1, sunt obținute cu un efect mai mare decât dacă astfel de compoziții folosesc numai peptidele WT1 sau inhibitorii PD1 singuri. Într-o variantă de realizare, cursul administrării vaccinului WT1 și cursul administrării unuia sau mai multor inhibitori PD1 sunt concurente, se suprapun sau sunt simultane astfel încât răspunsul biologic la vaccin este îmbunătățit prin administrarea unuia sau mai multor inhibitori PD1. Într-o variantă de realizare, cursul administrării vaccinului WT1 se poate termina înainte de începerea cursului terapiei cu inhibitor PD1, în măsura în care eficacitatea CTL-urilor provocate de administrarea vaccinului WT1 este îmbunătățită de terapia cu inhibitor PD1. Într-o variantă de realizare, prima administrare a terapiei cu inhibitor PD1 are loc în aceeași zi cu ultima administrare de vaccin WT1. Într-o variantă de realizare, sfârșitul vaccinării WT1 și începutul terapiei cu inhibitor PD1 sunt separate de la 1-7 zile sau de la 1-4 săptămâni.

Într-o altă variantă de realizare, o peptidă pentru utilizare în prezenta invenție este imunogenă. Termenul "imunogen" se referă la o capacitate de a stimula, de a provoca sau de a participa la un răspuns imun. Într-o altă variantă de realizare, răspunsul imun provocat este un răspuns imun mediat de celule. Într-o altă variantă de realizare, răspunsul imun este o combinație de răspunsuri mediate celular și umorale.

Așa cum este dezvăluit aici, o întâlnire a unei celule T cu o peptidă pentru utilizare în această invenție induce diferențierea acesteia într-o celulă T efector și/sau de memorie. Întâlnirile ulterioare între celulele T efector sau de memorie și aceeași peptidă sau, într-o altă variantă de realizare, cu o peptidă heteroclitică, duce la un răspuns imun mai rapid și mai intens. Astfel de răspunsuri sunt măsurate, într-o altă variantă de realizare, prin măsurarea gradului de proliferare a populației de celule T expuse peptidei.

Într-o altă variantă de realizare, așa cum este descris aici, atunci când subiectul este expus la o peptidă sau o compoziție care cuprinde o peptidă pentru utilizare în această invenție, care diferă de proteina nativă exprimată, ulterior se dezvoltă un răspuns imun al gazdei reactiv încrucișat cu proteina/antigenul nativ.

Într-o altă variantă de realizare, peptidele, compozițiile și vaccinurile pentru utilizare în această invenție stimulează un răspuns imun care are ca rezultat liza celulelor tumorale. În toate variantele de realizare de mai sus, utilizarea concomitentă a inhibitorului PD1 îmbunătățește răspunsul imun împotriva tumorii.

Într-o variantă de realizare, molecula WT1 are secvența:

MGSDVRDLNALLPAVPSLGGGGGCALPVSGAAQWAPVLDFAPPGASAYGSLGGPAP
 PPAPPPPPPPPHSFIKQEPSWGGAEPEEQCLSFTVHFSGQFTGTAGACRYGPFGPPP
 PSQASSGQARMFPNAPYLPSCLESQPAIRNQGYSTVTFDGTSPSYGHTPSHHAQFPNH
 SFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPPVYGCHTPTDSTGTSQALLLRTPYSSDNLYQMTS
 QLECMTWNQMNLGATLKGVAAGSSSSSVKWTEGQSNHSTGYESDNHTTPILCGAQYR
 IHTHGVFRGIQDVRRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCNKRYFKLSHLQMHS
 RKHTGEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHRHRRHTGVKPFQCKTCQRKFSRSDHLKTH
 TRTHTGKTSEKPFSCRWPSCQKKFARSDDELVRHHNMHQRNMTKLQLAL (SEQ ID
 NO:199; GenBank Accession number AY245105).

Într-o altă variantă de realizare, molecula WT1 are secvența:

AAEASAERLQGRSRGASGSEPQQMGSDVRDLNALLPAVPSLGGGGGCALPVSGAA
 QWAPVLDFAPPGASAYGSLGGPAPPPAPPPPPPPPHSFIKQEPSWGGAEPEEQCLS
 FTVHFSGQFTGTAGACRYGPFGPPPPPSQASSGQARMFPNAPYLPSCLESQPAIRNQGY
 STVTFDGTSPSYGHTPSHHAQFPNHSFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPPVYGCHTPT
 DSTGTSQALLLRTPYSSDNLYQMTSQLECMTWNQMNLGATLKGHSTGYESDNHTTP
 LCGAQYRIHTHGVFRGIQDVRRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCNKRYFKL
 SHLQMHSRKHTGEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHRHRRHTGVKPFQCKTCQRKFS
 RSDHLKTHTRTHTGEKPFSCRWPSCQKKFARSDDELVRHHNMHQRNMTKLQLAL
 (SEQ ID NO:200; GenBank Accession number NM_000378).

5

Într-o altă variantă de realizare, molecula WT1 are secvența:

MQDPASTCVPEPASQHTLRSGPGCLQQPEQQGVDPGGIWAKLGAAEASAERLQGR
 RSRGASGSEPQQMGSDVRDLNALLPAVPSLGGGGGCALPVSGAAQWAPVLDFAPPG
 ASAYGSLGGPAPPPAPPPPPPPPHSFIKQEPSWGGAEPEEQCLSFTVHFSGQFTGT
 AGACRYGPFGPPPPPSQASSGQARMFPNAPYLPSCLESQPAIRNQGYSTVTFDGTSPSYG
 HTPSHHAQFPNHSFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPPVYGCHTPTDSTGTSQALLR
 TPYSSDNLYQMTSQLECMTWNQMNLGATLKGVAAGSSSSSVKWTEGQSNHSTGYES
 DNHTTPILCGAQYRIHTHGVFRGIQDVRRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCN
 KRYFKLSHLQMHSRKHTGEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHRHRRHTGVKPFQCKT
 CQRKFSRSDHLKTHTRTHTGEKPFSCRWPSCQKKFARSDDELVRHHNMHQRNMTKLQ
 LAL (SEQ ID NO:201; GenBank Accession number NP_077742).

Într-o altă variantă de realizare, molecula WT1 cuprinde secvența:

MGHHHHHHHHHHSSGHIEGRHMRRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCNKRY
 FKLSHLQMHSRKHTGEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHRHRRHTGVKPFQCKTCQR
 KFSRSDHLKTHTRTHTGEKPFSCRWPSCQKKFARSDDELVRHHNMHQRNMTKLQLAL
 (SEQ ID NO:202).

10

În alte variante de realizare, proteina WT1 cuprinde una dintre secvențele prezentate în una
 dintre următoarele intrări de secvență GenBank: NM_024426, NM_024425, NM_024424, NM_000378,
 S95530, D13624, D12496, D12497, AH003034 sau X77549.

În anumite variante de realizare, compoziția conform prezentei invenții este un vaccin.

Într-o altă variantă de realizare, combinația de agenți de tratament pentru utilizare în prezenta invenție poate fi pentru inducerea unui răspuns imun anti-mezoteliom la un subiect, tratarea unui subiect cu un mezoteliom sau pentru reducerea incidenței unui mezoteliom sau a recidivei acestuia, la un subiect.

Într-o altă variantă de realizare, compoziția care cuprinde cele patru peptide WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RSEDLVRHHNMHQNRMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHRSRKHTG (SEQ ID NO: 2) și SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:125) și cel puțin un inhibitor PD1 mai cuprinde un purtător acceptabil farmaceutic. Într-o altă variantă de realizare, compoziția cuprinde în plus un adjuvant. Într-o altă variantă de realizare, compoziția mai cuprinde oricare dintre aditivi, compuși sau excipienți prezentați aici mai jos. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este o sare de alaiun sau alt adjuvant mineral, produs bacterian sau adjuvant derivat din bacterii, agent tensoactiv (de exemplu, saponină), emulsie o/w sau w/o, adjuvant lipozomi, citokină (de exemplu, IL-2, GM-CSF, IL-12 și IFN-gamma) sau analog de alfa-galactosilceramidă. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este QS21, adjuvantul complet sau incomplet al lui Freund, fosfat de aluminiu, hidroxid de aluminiu, BCG sau alaun. În alte variante de realizare, purtătorul este orice purtător enumerat aici. În alte variante de realizare, adjuvantul este orice adjuvant enumerat aici.

Într-o altă variantă de realizare, compoziția poate fi o compoziție de vaccin sau o compoziție imunogenă.

Într-o altă variantă de realizare, termenul "vaccin" se referă la un material sau compoziție care, atunci când este introdus într-un subiect, furnizează un răspuns profilactic sau terapeutic pentru o anumită boală, afecțiune sau simptom al acesteia. Într-o altă variantă de realizare, această invenție cuprinde vaccinuri pe bază de peptide, opțional incluzând în plus compuși imunomodulatori cum ar fi citokine, adjuvanți etc.

În alte variante de realizare, compoziția mai cuprinde un adjuvant. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este Montanide ISA 51. Montanide ISA 51 conține un ulei natural metabolizabil și un emulgator rafinat. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este GM-CSF. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este hemocianina de limpetă (KLH), care poate fi conjugată cu antigenul peptidic sau poate fi administrată împreună cu peptida. GM-CSF recombinant este o proteină umană cultivată, într-o altă variantă de realizare, într-un vector de drojdie (*S. cerevisiae*). GM-CSF promovează expansiunea clonală și diferențierea celulelor progenitoare hematopoietice, APC și celulelor dendritice și celulelor T.

Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este o citokină. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este un factor de creștere. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este o populație de celule. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este QS21. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este adjuvantul incomplet al lui Freund. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este fosfatul de aluminiu. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este hidroxidul de aluminiu. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este BCG. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este alaun. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este o interleukină. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este o chemokină. Într-o altă variantă de realizare, adjuvantul este orice alt tip de adjuvant cunoscut în domeniu. Într-o altă variantă de realizare, vaccinul WT1 cuprinde doi dintre adjuvanții de mai sus. Într-o altă variantă de realizare, vaccinul WT1 cuprinde mai mult de doi dintre adjuvanții de mai sus.

Această invenție furnizează combinația de agenți de tratament pentru utilizare în tratarea unui subiect cu un cancer care exprimă WT1. Într-o altă variantă de realizare, prezenta invenție furnizează combinația de agenți de tratament pentru utilizare în suprimarea sau oprirea progresiei unui cancer care exprimă WT1 la un subiect. Într-o altă variantă de realizare, prezenta invenție furnizează combinația de agenți de tratament pentru utilizare în reducerea incidenței unui cancer care exprimă WT1 la un subiect. Într-o altă variantă de realizare, prezenta invenție furnizează combinația de agenți de tratament pentru utilizare în reducerea incidenței recidivei unui cancer care exprimă WT1 la un subiect. Într-o altă variantă de realizare, prezenta invenție furnizează combinația de agenți de tratament pentru utilizare în depășirea toleranței celulelor T a unui subiect la un cancer care exprimă WT1.

De asemenea, este dezvăluit faptul că compoziția prezentei invenții poate fi utilizată într-o metodă de tratare a unui subiect care are un cancer care exprimă WT1, cuprinzând (a) inducerea într-o formare și proliferare de donator a limfocitelor T citotoxice umane (CTL) care recunosc un celula malignă a cancerului; și (b) iperfuzarea CTL umană la subiect, tratând astfel un subiect care are un cancer. Metodele pentru imunoterapie *ex vivo* sunt bine-cunoscute în domeniu și sunt descrise, de exemplu, în Davis ID și colab. (Blood dendritic cells generated with Flt3 ligand and CD40 ligand prime CD8+ T cells efficiently in cancer patients. *J Immunother.* 2006 Sep-Oct;29(5):499-511) și Mitchell MS și colab. (The cytotoxic T cell response to peptide analogs of the HLA-A* 0201-restricted MUC1 signal sequence epitope, M1.2. *Cancer Immunol Immunother.* 2006 Iul 28).

Este dezvăluit că tratamentul prezentei invenții poate acționa prin inducerea la un subiect a formării și proliferării unui CTL specific proteinei WT1. Într-o altă variantă de realizare, compoziția imunogenă poate cuprinde în plus o celulă prezentatoare de antigen (APC).

Este dezvăluit că tratamentul prezentei invenții poate acționa prin generarea unui răspuns imun heteroclitic la un subiect, în care răspunsul imun heteroclitic este îndreptat împotriva unui cancer care exprimă WT1.

Într-o variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este o leucemie mielogenă acută (LMA). Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este o leucemie mielogenă cronică (CML). Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este asociat cu un sindrom mielodisplazic (SMD). Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un SMD. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer pulmonar fără celule mici (NSCLC). Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un carcinom esofagian cu celule scuamoase. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este o leucemie limfoblastică acută (LLA). Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un sarcom osos sau de țesut moale. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este o tumoră Wilms. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este o leucemie. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer hematologic. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un limfom. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este o tumoră cu celule rotunde mici desmoplazice. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un mezoteliom. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un mezoteliom malign. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer gastric. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer de colon. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer pulmonar. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer de sân. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este o tumoră cu celule germinale. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un mezoteliom pleural malign. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este mielom multiplu. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este leucemie mieloidă. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer astrocitar. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un glioblastom (de exemplu, glioblastom multiform). Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un adenocarcinom colorectal. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer ovarian (de exemplu, seros, epitelial sau endometrial). Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este cancer de sân. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este melanom. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este carcinom cu celule scuamoase de cap și gât. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este carcinom pancreatic cu celule ductale. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un neuroblastom. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer uterin. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer tiroidian. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un carcinom hepatocelular. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer tiroidian. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer de ficat. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un cancer renal (de exemplu, carcinom cu celule renale). Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este sarcomul Kaposi. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este un sarcom. Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este orice alt carcinom sau sarcom.

Într-o altă variantă de realizare, cancerul care exprimă WT1 este o tumoră solidă. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer care exprimă WT1. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un sindrom mielodisplazic (SMD). Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer pulmonar cu celule mici (NSCLC). Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer pulmonar. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer de sân. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer colorectal. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer de prostată. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer ovarian. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer renal. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer pancreatic. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer cerebral. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer gastro-intestinal. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un cancer de piele. Într-o altă variantă de realizare, tumoră solidă este asociată cu un melanom.

Într-o altă variantă de realizare, cancerul sau tumora tratată prin prezenta invenție este suspectată că exprimă WT 1. Într-o altă variantă de realizare, expresia WT1 nu a fost verificată prin testarea probei tumorale reale. Într-o altă variantă de realizare, cancerul sau tumoră este de un tip cunoscut pentru a exprima WT1 în multe cazuri. Într-o altă variantă de realizare, tipul exprimă WT1 în majoritatea cazurilor.

O listă neexhaustivă de tipuri de cancer care exprimă WT1 care pot fi tratate folosind compozițiile invenției este prezentată în Tabelul 3.

Tabelul 3. Exemple de tipuri de cancer

Leucemie Limfoblastică Acută, Leucemie Limfoblastică Acută La Adulți, Leucemie Mieloidă Acută în Copilărie, Leucemie Mieloidă Acută La Adulți, Carcinom Corticosuprarenal în Copilărie, Carcinom Corticosuprarenal, Cancere Legate De SIDA în Copilărie, Limfom Legat De SIDA, Cancer Anal, Astrocitom, Astrocitom Cerebelos În Copilărie, Carcinom Bazocelular Cerebral În Copilărie, Cancer De Căi Biliare, Cancer De Vezică Extrahepatică, Cancer De Vezică Urinară, Cancer Osos În Copilărie, Osteosarcom/Histiocitom Fibros Malign, Gliom al Trunchiului Cerebral, Tumoare Cerebrală În Copilărie, Tumoare Cerebrală La Adulți, Gliom Trunchi Cerebral, Tumoare Cerebrală În Copilărie, Astrocitom Cerebelos, Tumoare Cerebrală În Copilărie, Astrocitom Cerebral/Gliom Malign, Tumoare Cerebrală În Copilărie, Ependimom, Tumoare Cerebrală În Copilărie, Meduloblastom, Tumoare Cerebrală În Copilărie, Tumori Neuroectodermice Primitive Supratentoriale, Tumora Cerebrală În Copilărie, Cale Vizuală Și Gliom Hipotalamic, Tumoră Cerebrală În Copilărie, Cancer De Sân În Copilărie, Cancer De Sân, Cancer De Sân În Copilărie, Adenoame Bronșice/Carcinoide Masculine, Limfom Burkitt În Copilărie, Tumora Carcinoidă, Tumora Carcinoidă În Copilărie, Carcinom Gastrointestinal Cu Limfom Primar Necunoscut, Limfom Al Sistemului Nervos Central, Astrocitom Cerebelos Primar, Astrocitom Cerebral/Gliom Malign În Copilărie, Cancer De Col Uterin În Copilărie, Cancer În Copilărie, Leucemie Limfocitară Cronică, Leucemie Mielogenă Cronică, Tulburări Mieloproliferative Cronice, Cancer De Colon, Cancer Colorectal, Limfom Cutanat Cu Celule T În Copilărie, Vezi Micoza Fungoide Și Sindromul Sezary, Ependimom De Cancer Endometrial, Cancer Esofagian În Copilărie, Cancer Esofagian, Familia De Tumori Ewing În Copilărie, Tumori Celulare Extracraniene, Tumora Cu Celule Germinale Extragonadale În Copilărie, Cancerul Căilor Biliare Extrahepatice, Cancerul Ocular, Melanomul Intraocular Cancerul Ocular, Retinoblastom, Cancerul Vezicii Biliare, Cancer Gastric (De Stomac), Cancer Gastric (De Stomac), Tumoră Carcinoidă Gastrointestinală În Copilărie, Tumoră Cu Celule Germinale, Tumoră Cu Celule Germinale Extracraniene În Copilărie, Tumora Cu Celule Germinale Extragonadale, Tumora Trofoblastică Gestațională Ovariană, Gliom, Gliom La Adult, Gliom al Trunchiului Cerebral În Copilărie, Gliom Astrocitom Cerebral În Copilărie, Cale Vizuală În Copilărie Și Cancer De Piele Hipotalamic (Melanom), Carcinom Cutanat, Cancer Pulmonar Cu Celule Mici Cu Celule	Leucemie Cu Celule Păroase, Cancer La Cap Și Gât, Cancer Hepatocelular (Ficat), Cancer Hepatocelular (Primar) La Adulți, Limfom Hodgkin În Copilărie (Primar), Limfom Hodgkin La Adulți, Limfom Hodgkin În Copilărie În Timpul Sarcinii, Cancer Hipofaringian, Gliom Hipotalamic Și al Căii Vizuale, Melanom Intraocular În Copilărie, Carcinom Cu Celule Insulare (Pancreas Endocrin), Sarcom Kaposi, Cancer Renal (Celule Renale), Cancer Renal, Cancer Laringian În Copilărie, Cancer Laringian, Leucemie În Copilărie, Limfoblastică Acută, Leucemie La Adulți, Limfoblastică Acută, Leucemie În Copilărie, Mieloidă Acută, Leucemie La Adulți, Mieloidă Acută, Leucemie În Copilărie, Leucemie Limfocitară Cronică, Leucemie Mielogenă Cronică, Cancer La Nivelul Buzelor Și Cavității Bucale Cu Celule Păroase Cancer Hepatic, Cancer Hepatic (Primar) La Adulți, Cancer Pulmonar (Primar) În Copilărie, Cancer Pulmonar Fără Celule Mici, Limfom Cu Celule Mici, Limfom Asociat SIDA, Limfom Burkitt, Limfom Cutanat Cu Celule T, Vezi Micoză Fungoide Și Limfom Cu Sindrom Sezary, Limfom Hodgkin La Adulți, Limfom Hodgkin În Copilărie, Limfomul Hodgkin În Timpul Sarcinii, Limfomul Non-Hodgkin, Limfomul La Adulți, Limfomul Non-Hodgkin, Limfomul În Copilărie, Limfomul Non-Hodgkin În Timpul Sarcinii, Macroglobulinemia Primară A Sistemului Nervos Central, Histiocitom Fibros Malign Waldenström De Os/Osteosarcom, Meduloblastom, Melanom În Copilărie, Carcinom Intraocular (Ochi) Cu Celule Merkel, Mezoteliom, Mezoteliom Malign Pentru Adulți, Cancer De Gât Scuamos Metastatic În Copilărie Cu Sindrom Primar Ocult, Neoplazie Endocrină Multiplă, Mielom Multiplu/Neoplasm Cu Celule Plasmatică În Copilărie, Micoză Fungoide, Sindrome Mielodisplazice, Boli Mielodisplazice/Mieloproliferative, Leucemie Mielogenă, Leucemie Mieloidă Cronică, Leucemie Mieloidă Acută La Adulți, Mielom Acut în Copilărie, Tulburări Mieloproliferative Multiple, Cancer Cronic Al Cavității Nazale Și Sinusurilor Paranasale, Cancer Nazofaringian, Cancer Nazofaringian, Neuroblastom Infantil, Limfom Non-Hodgkin, Limfom Non-Hodgkin Pentru Adulți, Limfom Non-Hodgkin În Copilărie În Timpul Sarcinii, Cancer Pulmonar Fără Celule Mici, Cancer Oral, Cancer Al Cavității Bucale în Copilărie, Cancer De Buză Și Orofaringian, Osteosarcom/Histiocitom Fibros Malign Al Osului, Cancer Ovarian, Cancer Epitelial Ovarian în Copilărie, Tumoră Cu Celule Germinale Ovariene, Tumoră Ovariană Cu
--	---

Merkel, Cancer De Intestin Subțire, Sarcomul Țesuturilor Moi, Sarcom De Țesut Moale La Adulți, Carcinom Cu Celule Scuamoase În Copilărie, vezi Cancer De Piele (Non-Melanom) Cancer Scuamos De Gât Cu Cancer Primar Ocult, Cancer De Stomac (Gastric) Metastatic, Cancer De Stomac (Gastric), Tumori Neuroectodermice Primitive Supratentoriale În Copilărie, Limfom Cu Celule T În Copilărie, Cutanat, vezi Micoză, Fungoide Și Sindrom Sezary, Cancer Testicular, Timom, Timom Și Carcinom Timic În Copilărie, Cancer Tiroidian, Cancer Tiroidian, Cancer Cu Celule Tranziționale În Copilărie Al Pelvisului Renal Și Al Tumora Trofoblastică Uretrară, Situs Primar Gestațional Necunoscut, Carcinomul La Situsul Primar Necunoscut La Adulți, Cancerul, Cancerile Neobișnuite Ale Copilăriei Ale Ureterului Și Pelvisului Renal În Copilărie, Cancerul Cu Celule Tranziționale, Cancer Uretral, Cancer Uterin, Sarcom Uterin Endometrial, Cancer Vaginal, Cale Vizuală Și Gliom Hipotalamic, Cancer Vulvar În Copilărie, Macroglobulinemie Waldenström, Tumoră Wilms	Potențial Malign Scăzut, Cancer Pancreatic Mic, Cancer Pancreatic, Cancer Pancreatic în Copilărie, Cancerul Sinusului Paranasal și Al Cavității Nazale Cu Celule Insulare, Cancerul Paratiroidian, Cancerul Penian, Feocromocitomul Pineoblastom și Tumori Neuroectodermice Primitive Supratentoriale, Tumora Hipofizară În Copilărie, Neoplasm Cu Celule Plasmice/Mielom Multiplu, Blastom Pleuropulmonar, Sarcină Și Cancer De Sân, Sarcină Și Limfom Hodgkin, Sarcină Și Limfom Non-Hodgkin, Limfom Primar Al Sistemului Nervos Central, Cancer De Prostată, Cancer Rectal, Cancer la Celule Renale (Rinichi), Cancer la Celule Renale (Rinichi), Cancer Cu Celule Tranziționale De Pelvis Și Ureter Renal În Copilărie, Retinoblastom, Rhabdomyosarcom, Cancer Al Glandei Salivare În Copilărie, Cancer de Glandă Salivară, Sarcom În Copilărie, Sarcom Al Tumorilor Din Familia Ewing, Sarcom Kaposi, Țesut Moale, Sarcom Adult, Țesut Moale, Sarcom În Copilărie, Sindrom Sezary Uterin, Cancer Cutanat, Cancer De Piele (Non-Melanom), Cancer de Stomac În Copilărie
---	--

Așa cum se prevede aici, peptidele heteroclitice pentru utilizare în invenție provoacă răspunsuri ale celulelor T CD8⁺ specifice antigenului. Într-o altă variantă de realizare, răspunsurile celulelor T CD4⁺ specifice antigenului ajută la inducerea și menținerea răspunsurilor celulelor T citotoxice CD8⁺ (CTL).

Este dezvăluit că, într-o altă variantă de realizare, peptidele WT1 pentru utilizare în prezenta invenție, împreună cu cel puțin un inhibitor PD1, prezintă o capacitate îmbunătățită de a provoca răspunsuri CTL, datorită capacității lor de a lega atât molecule HLA clasa I cât și HLA clasa II. Acest lucru s-ar putea datora capacității inhibitorului PD1 de a crește supraviețuirea și proliferarea CTL-urilor specifice WT1. Într-o altă variantă de realizare, vaccinurile din prezenta invenție cu cel puțin un inhibitor PD1 au avantajul de a activa sau de a provoca atât celulele T CD4⁺ cât și CD8⁺ care recunosc antigenele WT1. Într-o altă variantă de realizare, activarea sau declanșarea ambelor celule T CD4⁺ și CD8⁺ furnizează un răspuns imun anti-WT1 sinergic, în raport cu activarea fiecărei populații în monoterapie. Într-o altă variantă de realizare, imunogenitatea îmbunătățită a peptidelor WT1 pentru utilizare în prezenta invenție este prezentată la indivizi cu mai multe subtipuri HLA clasa II, datorită capacității peptidelor de a lega mai multe subtipuri HLA clasa II.

Este de asemenea dezvăluit că, într-o altă variantă de realizare, celulele CD4⁺ activate îmbunătățesc imunitatea prin licențierea celulelor dendritice, susținând astfel activarea și supraviețuirea celulelor T citotoxice. Într-o altă variantă de realizare, celulele T CD4⁺ activate induc moartea celulară tumorală prin contact direct cu celula tumorală sau prin activarea căii de apoptoză. Celulele tumorale mezoteliom, de exemplu, sunt capabile să proceseze și să prezinte antigene în contextul moleculelor HLA clasa I și clasa II.

De asemenea, este dezvăluit faptul că peptidele, vaccinurile și/sau compozițiile imunogene administrate împreună cu cel puțin un inhibitor PD1 au avantajul de a activa sau de a produce celule T CD4⁺ specifice WT1 care conțin multiple alele diferite HLA clasa II. Într-o altă variantă de realizare, vaccinurile au avantajul de a activa sau de a produce celule T CD4⁺ specifice WT1 într-o proporție substanțială a populației. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 10% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 15% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 20% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 25% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 30% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 35% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 40% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 45% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 50% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice

WT1 la 55% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 60% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 70% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 75% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 80% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 85% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 90% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 95% din populație. Într-o altă variantă de realizare, peptidele activează celulele T CD4⁺ specifice WT1 la 95% din populație. Într-o altă variantă de realizare, vaccinurile activează sau provoacă celule T CD4⁺ specifice WT1 într-o proporție substanțială dintr-o anumită populație (de exemplu, Caucazieni Americani).

De asemenea, este dezvăluit faptul că, într-o altă variantă de realizare, compozițiile pentru utilizare în prezenta invenție asigură o îmbunătățire a unui răspuns imun care a fost deja montat de către un subiect. Într-o altă variantă de realizare, compozițiile pot fi administrate încă o dată sau încă de două ori. Într-o altă variantă de realizare, combinația de agenți de tratament asigură inițierea unui răspuns imun împotriva unui antigen de interes la un subiect la care un răspuns imun împotriva antigenului de interes nu a fost deja inițiat. Într-o altă variantă de realizare, CTL care sunt induse proliferază ca răspuns la prezentarea peptidei pe APC sau celula canceroasă. În alte variante de realizare, referirea la modularea răspunsului imun implică, fie ambele brațe umorale, cât și brațele mediate de celule ale sistemului imunitar, care sunt însoțite de prezența celulelor helper T Th2 și respectiv Th1, sau într-o altă variantă de realizare, fiecare braț individual.

De asemenea, este dezvăluit că, în alte variante de realizare, afectarea creșterii unei tumori au ca rezultat (1) inhibarea directă a diviziunii celulare tumorale sau (2) liza celulei tumorale mediată de celule imune, sau ambele, ceea ce duce la o supresie a expansiunii nete a celulelor tumorale. Utilizarea peptidelor WT1 împreună cu cel puțin un inhibitor PD1 mărește inhibarea directă a diviziunii celulelor tumorale, liza celulară mediată de celulele imune sau ambele, mai mult decât fără utilizarea inhibitorului PD1.

Inhibarea creșterii tumorii prin oricare dintre aceste două mecanisme poate fi ușor determinată de către un specialist în domeniu pe baza unui număr de metode bine-cunoscute. Într-o altă variantă de realizare, inhibarea tumorii este determinată prin măsurarea dimensiunii reale a tumorii pe o perioadă de timp. Într-o altă variantă de realizare, inhibarea tumorii poate fi determinată prin estimarea dimensiunii unei tumori (pe o perioadă de timp) utilizând metode bine-cunoscute specialiștilor în domeniu. Mai precis, o varietate de metode de imagistică radiologică (de exemplu, tomografie computerizată cu emisie de fotoni unici și pozitroni; vezi, în general, „Nuclear Medicine in Clinical Oncology”, Winkler, C. (ed.) Springer-Verilog, New York, 1986), poate fi utilizat pentru a estima dimensiunea tumorii. Astfel de metode pot utiliza, de asemenea, o varietate de agenți imagistici, incluzând, de exemplu, agenți imagistici convenționali (de exemplu, citrat de Galiu-67), precum și reactivi specializați pentru imagistica metabolitului, imagistica receptorului sau imagistica imunologică (de exemplu, markeri tumorali specifici pentru anticorp monoclonal radiomarcant). În plus, metode non-radioactive, cum ar fi ultrasunetele (a se vedea „Ultrasonic Differential Diagnosis of Tumors”, Kossoff și Fukuda, (eds.), Igaku-Shoin, New York, 1984), pot fi, de asemenea, utilizate pentru a estima dimensiunea unei tumori.

În plus față de metodele *in vivo* pentru determinarea inhibiției tumorale discutate mai sus, o varietate de metode *in vitro* pot fi utilizate pentru a determina inhibarea tumorii *in vivo*. Exemplele reprezentative includ activitatea citolitică antitumorală mediată de limfocite determinată, de exemplu, printr-un test de eliberare a ⁵¹Cr, proliferarea limfocitelor dependente de tumoră (Ioannides, și colab., J. Immunol. 146(5):1700-1707, 1991), generarea *in vitro* de anticorpi specifici tumorii (Herlyn, și colab., J. Immunol. Meth. 73:157-167, 1984), inhibarea creșterii celulare *in vitro* (Gazit, și colab., Cancer Immunol Immunother 35: 135-144, 1992) mediată de celule (de exemplu, CTL, celulă T helper) sau umoral (de exemplu, anticorp) și, pentru oricare dintre aceste teste, determinarea frecvenței precursorului celular (Vose, Int. J. Cancer 30: 135-142 (1982) și altele.

Într-o altă variantă de realizare, suprimarea creșterii tumorale indică o stare de creștere care este redusă în comparație cu creșterea fără contact cu sau expunerea la o peptidă administrată împreună cu cel puțin un inhibitor al checkpoint al acestei invenții. Creșterea celulelor tumorale poate fi evaluată prin orice mijloace cunoscute în domeniu, inclusiv măsurarea dimensiunii tumorii, determinarea dacă celulele tumorale proliferază utilizând un test de încorporare ³H-timidină sau numărarea celulelor tumorale. „Suprimarea” creșterii celulelor tumorale se referă, în alte variante de realizare, la încetinirea, întârzierea sau oprirea creșterii tumorii sau la micșorarea tumorii.

Într-o altă variantă de realizare, expresia WT1 este măsurată înainte de administrarea tratamentului, după administrarea tratamentului sau atât înainte cât și după administrarea tratamentului. Într-o altă variantă de realizare, se măsoară expresia transcripției WT1. Într-o altă variantă de realizare, nivelurile de proteină WT1 în celulele tumorale sau canceroase sunt măsurate. Într-o altă variantă de

realizare, proteina WT1 sau peptidele aruncate din celulele canceroase sau celulele tumorale în circulație sau în alte fluide corporale cum ar fi urina sunt măsurate.

Într-o altă variantă de realizare, expresia proteinei checkpoint PD1 vizată de unul sau mai mulți inhibitori PD1 este măsurată (la nivel de transcripție sau la nivel de proteină) în celulele tumorale sau canceroase sau în sânge integral, ser sau plasmă, înainte de administrarea tratamentului (de referință), după administrarea tratamentului sau atât înainte, cât și după administrarea tratamentului. Într-o variantă de realizare, expresia a două sau mai multe dintre PD1, PD2 și CTLA4 este măsurată înainte de administrarea tratamentului, după administrarea tratamentului sau ambele înainte și după administrarea tratamentului. Într-o variantă de realizare, expresia proteinei este măsurată la un situs primar al tumorii. Într-o altă variantă de realizare, cancerul este metastatic și expresia proteinei este măsurată la un situs metastatic, sau la locul tumorii primare, sau ambele.

Într-o altă variantă de realizare, unul sau mai mulți dintre următorii markeri sunt măsurați înainte de administrarea tratamentului (de referință), după administrarea tratamentului sau atât înainte, cât și după administrarea tratamentului: celule supresoare derivate din mieloid monocitar (m-MDSC), Proteina C reactivă (CRP), limfocite absolute, limfocite absolute și lactat dehidrogenază (LDH). Într-o altă variantă de realizare, utilizarea unuia sau mai multor markeri pentru prezicerea sau identificarea receptivității la modularea checkpoint este cuprinsă aici.

Metodele de determinare a prezenței și amplitudinii unui răspuns imunitar sunt bine-cunoscute în domeniu. Într-o altă variantă de realizare, testele de proliferare a limfocitelor, în care absorbția celulelor T a unei substanțe radioactive, de exemplu ^3H -timidină este măsurată ca o funcție a proliferării celulare. În alte variante de realizare, detectarea proliferării celulelor T se realizează prin măsurarea creșterilor producției de interleukină-2 (IL-2), a fluxului de Ca^{2+} sau a absorbției coloranților, cum ar fi 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazoliu. Fiecare posibilitate reprezintă o variantă de realizare separată a prezentei invenții.

Într-o altă variantă de realizare, stimularea CTL este determinată prin mijloace cunoscute specialiștilor în domeniu, inclusiv, detectarea proliferării celulare, producerea de citokine și altele. Analiza tipurilor și cantităților de citokine secretate de celulele T la punerea în contact țintelor pulsate de ligand poate fi o măsură a activității funcționale. Citokinele pot fi măsurate prin ELISA, teste ELISPOT sau sortare celulară activată prin fluorescență (FACS) pentru a determina rata și cantitatea totală de producție de citokine. (Fujihashi K. și colab. (1993) J. Immunol. Meth. 160:181; Tanguay S. și Killion JJ (1994) Lymphokine Cytokine Res. 13:259).

Într-o altă variantă de realizare, activitatea CTL este determinată de test de eliberare liza ^{51}Cr . Liza țintelor marcate cu ^{51}Cr pulsate de peptidă de către celulele T specifice antigenului poate fi comparată pentru celulele țintă pulsate cu peptida martor. Într-o altă variantă de realizare, celulele T sunt stimulate cu o peptidă conform acestei invenții și se poate determina liza celulelor țintă care exprimă peptida nativă în contextul MHC. Cinetica lizei, precum și liza țintă generală la un punct de timp fixat (de exemplu, 4 ore) sunt utilizate, într-o altă variantă de realizare, pentru a evalua performanța ligandului. (Ware CF și colab. (1983) J Immunol 131: 1312).

În alte variante de realizare, o peptidă pentru utilizare în invenție este conjugată cu una dintre diferitele alte molecule, așa cum este descris aici mai jos, care poate fi printr-o legătură covalentă sau necovalentă (complexată), a cărei natură variază, într-o altă variantă de realizare, în funcție de particularitatea scopului. Într-o altă variantă de realizare, peptida este complexată covalent sau necovalent la un purtător macromolecular, (de exemplu un purtător imunogen), incluzând polimeri naturali și sintetici, proteine, polizaharide, polipeptide (aminoacizi), alcool polivinilic, polivinil pirolidonă și lipide. Într-o altă variantă de realizare, o peptidă pentru utilizare în această invenție este legată de un substrat. Într-o altă variantă de realizare, peptida este conjugată cu un acid gras, pentru introducerea într-un lipozom (Brevetul SUA Nr. 5.837.249). Într-o altă variantă de realizare, o peptidă pentru utilizare în invenție este complexată covalent sau necovalent cu un suport solid, o varietate dintre care sunt cunoscute în domeniu. Într-o altă variantă de realizare, legătura peptidei cu purtătorul, substratul, acidul gras sau suportul solid servește la creșterea unui răspuns imunitar provocat.

În alte variante de realizare, purtătorul este tiroglobulina, o albumină (de exemplu, albumina serică umană), toxoid tetanic, poliaminoacizi cum ar fi poli (lizină: acid glutamic), o proteină gripală, proteina de bază a virusului hepatitei B, hemocianină din Megathura crenulata, o albumină, sau o altă proteină purtătoare sau peptidă purtătoare; vaccin recombinant împotriva virusului hepatitei B sau un APC.

Într-o altă variantă de realizare, termenii „cancer”, „neoplasm”, „neoplazic” sau „tumoră” sunt folosiți în mod interschimbabil și se referă la celule care au suferit o transformare malignă care le face patologice pentru organismul gazdă. Cancerul poate fi de orice stadiu în cadrul sistemului de stadializare numerotat (de exemplu, stadiul 0, stadiul 1, stadiul 2, stadiul 3 sau stadiul 4) și orice stadiu al sistemului de stadializare TNM. Celulele canceroase primare (adică celulele obținute din apropierea situsului de transformare malignă) pot fi ușor distinse de celulele necanceroase prin tehnici bine stabilite, în special

examen histologic. Definiția unei celule canceroase, așa cum este utilizată aici, include nu numai o celulă canceroasă primară, ci și orice celulă derivată dintr-un părinte al celulelor canceroase. Aceasta include celulele canceroase metastazate și culturile *in vitro* și liniile celulare derivate din celulele canceroase. Într-o altă variantă de realizare, o tumoră este detectabilă pe baza masei tumorale; de exemplu, prin proceduri precum scanarea CAT, imagistica prin rezonanță magnetică (RMN), raze X, ultrasunete sau palpare și, într-o altă variantă de realizare, este identificată prin descoperiri biochimice sau imunologice, aceasta din urmă fiind utilizată și pentru identificarea celulelor canceroase, în alte variante de realizare. O tumoră poate fi o tumoră solidă sau nesolidă.

Metodele de sintetizare a peptidelor sunt bine-cunoscute în domeniu. Într-o altă variantă de realizare, peptidele pentru utilizare în această invenție sunt sintetizate folosind un procedeu de sinteză adecvat în stare solidă (vezi de exemplu, Steward și Young, Solid Phase Peptide Synthesis, Freeman, San Francisco, California (1968); Merrifield (1967) Recent Progress in Hormone Res 23: 451). Activitatea acestor peptide este testată, în alte variante de realizare, utilizând teste așa cum este descris aici.

Într-o altă variantă de realizare, peptidele sunt purificate prin metode standard, inclusiv cromatografie (de exemplu, schimb de ioni, afinitate și cromatografie pe coloană de exclusiune sterică), centrifugare, solubilitate diferențială sau prin orice altă tehnică standard pentru purificarea proteinelor. Într-o altă variantă de realizare, se utilizează cromatografia de imuno-afinitate, prin care un epitop este izolat prin legarea acestuia la o coloană de afinitate cuprinzând anticorpi care au fost ridicați împotriva acelei peptide sau a unei peptide înrudite conform invenției și care au fost fixați pe un suport staționar.

Într-o altă variantă de realizare, etichete de afinitate, cum ar fi hexa-His (Invitrogen), domeniul de legare a maltozei (New England Biolabs), secvența de acoperire a gripei (Kolodziej și colab. (1991) Meth. Enzymol. 194: 508-509), glutation-S-transferaza sau altele, sunt atașate la peptidele din această invenție pentru a permite purificarea ușoară prin trecerea pe o coloană de afinitate adecvată. Peptidele izolate pot fi, de asemenea, caracterizate fizic, în alte variante de realizare, utilizând tehnici precum proteoliza, rezonanța magnetică nucleară și cristalografia cu raze X.

Într-o altă variantă de realizare, peptidele sunt produse prin translație *in vitro*, prin tehnici cunoscute, așa cum va fi evident pentru un specialist în domeniu. Într-o altă variantă de realizare, peptidele sunt modificate diferențial în timpul sau după translație, de exemplu, prin fosforilare, glicozilare, reticulare, acilare, clivaj proteolitic, legătură cu o moleculă de anticorp, moleculă de membrană sau alt ligand (Ferguson și colab. (1988) Ann. Rev. Biochem. 57:285-320).

Într-o altă variantă de realizare, peptidele pot cuprinde în plus o etichetă detectabilă, care într-o altă variantă de realizare, este fluorescentă, sau într-o altă variantă de realizare, luminescentă, sau într-o altă variantă de realizare, radioactivă sau într-o altă variantă de realizare, densă cu electroni. În alte variante de realizare, eticheta detectabilă cuprinde, de exemplu, proteină fluorescentă verde (GFP), DS-Red (proteină fluorescentă roșie), fosfatază alcalină secretată (SEAP), beta-galactozidază, luciferază, ³²P, ¹²⁵I, ³H și ¹⁴C, fluoresceină și derivații săi, rodamina și derivații săi, dansil și umbelliferonă, luciferină sau orice alt număr de astfel de etichete cunoscute de un specialist în domeniu. Eticheta particulară utilizată va depinde de tipul de imuno-test utilizat.

Într-o altă variantă de realizare, o peptidă pentru utilizare în această invenție este legată de un substrat, care, într-o altă variantă de realizare, servește ca purtător. Într-o altă variantă de realizare, legătura peptidei cu un substrat servește la creșterea unui răspuns imun provocat.

Într-o altă variantă de realizare, peptidele sunt legate de alte molecule, așa cum este descris aici, folosind agenți de reticulare convenționali, cum ar fi carbodimidele. Exemple de carbodimide sunt 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-(4-etil)carbodiimidă (CMC), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimidă (EDC) și 1-etil-3-(4-azonia-44-dimetilpentil)carbodiimidă.

În alte variante de realizare, agenții de reticulare cuprind bromură de cianogen, glutaraldehidă și anhidridă succinică. În general, oricare dintre un număr de agenți homo-bifuncționali, inclusiv o aldehidă homo-bifuncțională, un epoxid homo-bifuncțional, un imido-ester homo-bifuncțional, un ester N-hidroxisuccinimidă homo-bifuncțional, un maleimid homo-bifuncțional, un homo-bifuncțional pot fi utilizate halogenură de alchil, o piridil disulfură homo-bifuncțională, o halogenură de aril homo-bifuncțională, o hidrazidă homo-bifuncțională, un derivat de diazoniu homo-bifuncțional și un compus fotoreactiv homo-bifuncțional. De asemenea, sunt prevăzute, în alte variante de realizare, compuși hetero-bifuncționali, de exemplu, compuși care au o grupă reactivă la amină și o grupare reactivă la sulfhidril, compuși cu o grupare reactivă la amină și o grupare fotoreactivă și compuși cu o grupare reactivă la carbonil și o grupare reactivă la sulfhidril.

În alte variante de realizare, agenții de reticulare homo-bifuncționali includ esteri bifuncționali de N-hidroxisuccinimidă dimiobis (succinimidilpropionat), suberat de disuccinimidil și tartarat de disuccinimidil; imidoesterii bifuncționali dimetil adipimidat, dimetil pimelimidat și dimetil suberimidat; reticulanti bifuncționali reactivi cu sulfhidril 1,4-di-[3'-(2'-piridilditio)propionamido]butan, bismaleimidoheptan și bis-N-maleimido-1,8-octan; halogenurile de aril bifuncționale 1,5-difluoro-2,4-

dinitrobenzen și 4,4'-difluoro-3,3'-dinitrofenilsulfonă; agenți fotoreactivi bifuncționali cum ar fi bis-[b-(4-azidosalicilamido)etil]disulfură; aldehydele bifuncționale formaldehidă, malondialdehidă, succinaldehidă, glutaraldehidă și adipaldehidă; un epoxid bifuncțional precum 1,4-butaneodiol diglicidil eter; hidrazidele bifuncționale dihidrazidă a acidului adipic, carbohidrazidă și dihidrazidă a acidului succinic; diazoniile bifuncționale o-tolidină, benzidina diazotizată și bis-diazotizată; alchilhalidele bifuncționale N1N'-etilen-bis (iodoacetamidă), N1N'-hexameten-bis(iodoacetamidă), N1N'-undecameten-bis(iodoacetamidă), precum și benzilhalidele și halomustardele, cum ar fi acid ala'-diiodo-p-xilen sulfonic și, respectiv, tri(2-cloretil)amină,

În alte variante de realizare, agenții de reticulare hetero-bifuncționali utilizați pentru a lega peptidele de alte molecule, așa cum este descris aici, includ SMCC (succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexan-1-carboxilat), MB S (ester m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimidă), SIAB (N-succinimidil (4-iodoacteil)aminobenzoat), SMPB (succinimidil-4-(p-maleimidofenil)butirat), GMBS ester (N -(gamma-maleimidobutiriloxi)succinimidic), MPBH (hidrazida acidului 4-(4-N-maleimidopohenil)butiric), M2C2H (4-(N-maleimidometil) ciclohexan-1-carboxil-hidrazidă), SMPT (succinimidiloxycarbonil-a-metil-a-(2-piridilditio)toluen) și SPDP (N-succinimidil 3-(2-piridilditio)propionat).

Într-o altă variantă de realizare, peptidele invenției sunt formulate ca atașare non-covalentă a monomerilor prin interacțiuni ionice, adsorptive sau biospecifice. Complexe de peptide cu molecule încărcate puternic pozitiv sau negativ pot fi realizate, într-o altă variantă de realizare, prin formarea podului de sare în medii cu rezistență ionică redusă, cum ar fi în apa deionizată. Complexe mari pot fi create, într-o altă variantă de realizare, folosind polimeri încărcăți, cum ar fi poli-(acid L-glutamic) sau poli-(L-lizina), care conțin numeroase sarcini negative și, respectiv, pozitive. Într-o altă variantă de realizare, peptidele sunt adsorbite pe suprafețe cum ar fi mărele de latex de microparticule sau către alți polimeri hidrofobi, formând complexe peptidă-superantigen asociate non-covalent care imită în mod eficient proteina reticulată sau polimerizată chimic, în alte variante de realizare. Într-o altă variantă de realizare, peptidele sunt legate non-covalent prin utilizarea interacțiunilor biospecifice între alte molecule. De exemplu, utilizarea afinității puternice a biotinei pentru proteine precum avidina sau streptavidina sau derivații acestora ar putea fi utilizată pentru a forma complexe peptidice. Peptidele, în conformitate cu acest aspect, și într-o altă variantă de realizare, pot fi modificate pentru a poseda grupări de biotină utilizând reactivi de biotinilare obișnuiți, cum ar fi esterul N-hidroxisuccinimidilic al D-biotinei (NHS-biotina), care reacționează cu grupările de amină disponibile.

Într-o altă variantă de realizare, o peptidă pentru utilizare în prezenta invenție este legată de un purtător. Într-o altă variantă de realizare, purtătorul este KLH. În alte variante de realizare, purtătorul este orice alt purtător cunoscut în domeniu, incluzând, de exemplu, tiroglobulina, albumine precum albumina serică umană, toxoidul tetanic, poliaminoacizii precum poli (lizină: acid glutamic), gripă, nucleul virusului hepatitei B proteine, vaccin recombinant împotriva virusului hepatitei B și altele asemenea.

Într-o altă variantă de realizare, peptidele sunt conjugate la o lipidă, cum ar fi P3 CSS. Într-o altă variantă de realizare, peptidele sunt conjugate la o mărgea.

Într-o altă variantă de realizare, compușii imunomodulatori pot fi, de asemenea, administrați pacientului. În alte variante de realizare, compusul imunomodulator este o componentă de citokină, chimiochină sau complement care îmbunătățește expresia moleculelor accesorii sau de aderență ale sistemului imunitar, receptorii lor sau combinații ale acestora. În unele variante de realizare, compusul imunomodulator include interleukine, de exemplu interleukine de la 1 până la 15, interferoni alfa, beta sau gamma, factor de necroză tumorală, factor de stimulare a coloniei de granulocite-macrofage (GM-CSF), factor de stimulare a coloniei de macrofage (M-CSF), factor de stimulare a coloniei de granulocite (G-CSF), chemokine cum ar fi proteina de activare a neutrofilelor (NAP), macrofag chimioattractoare și factorul de activare (MCAF), RANTES, peptidele inflamatorii macrofage MIP-1a și MIP-1b, componente complementare sau combinații ale acestora. În alte variante de realizare, compusul imunomodulator stimulează exprimarea sau expresia îmbunătățită a OX40, OX40L (gp34), limfotactină, CD40, CD40L, B7.1, B7.2, TRAP, ICAM-1, 2 sau 3, receptori de citokine sau combinație a acestuia.

Într-o altă variantă de realizare, compusul imunomodulator induce sau îmbunătățește expresia moleculelor co-stimulatoare care participă la răspunsul imun.

Într-o variantă de realizare, pacienților cărora li s-a administrat combinația de agenți conform invenției li se administrează de asemenea GM-CSF înainte de sau în ziua primei vaccinări sau combinația acestora. Într-o variantă de realizare, unui pacient i se administrează 70 mcg de GM-CSF subcutanat cu două zile înainte și în ziua primului vaccin.

Într-o altă variantă de realizare, compoziția cuprinde un solvent, incluzând apă, medii de dispersie, medii de cultură celulară, agenți izotonici și altele asemenea. Într-o altă variantă de realizare, solventul este o soluție apoasă tamponată izotonică cu un pH de aproximativ 7,0. Într-o altă variantă de realizare, compoziția cuprinde un diluant cum ar fi apă, soluție salină tamponată cu fosfat sau soluție

salină. Într-o altă variantă de realizare, compoziția cuprinde un solvent, care este neapós, cum ar fi propil etilen glicol, polietilen glicol și uleiuri vegetale.

Într-o altă variantă de realizare, compoziția este formulată pentru administrare prin oricare dintre numeroasele tehnici cunoscute de specialiștii în domeniu. De exemplu, această invenție prevede administrarea compoziției farmaceutice parenteral, intravenos, subcutanat, intradermic, intramucoasă, local, oral sau prin inhalare.

Într-o altă variantă de realizare, vaccinul poate cuprinde în plus o populație de celule, care, într-o altă variantă de realizare, cuprinde limfocite, monocite, macrofage, celule dendritice, celule endoteliale, celule stem sau combinații ale acestora, care, într-o altă variantă de realizare sunt autologe, simgenice sau alogene, unul față de celălalt. Într-o altă variantă de realizare, populația de celule preia peptida. Într-o variantă de realizare, celula este o celulă prezentatoare de antigen (APC). Într-o altă variantă de realizare, APC este un APC profesional.

Într-o altă variantă de realizare, populațiile de celule sunt obținute din surse *in vivo*, cum ar fi, de exemplu, sânge periferic, produs din sânge de leucofereză, produs din sânge de afereză, ganglioni limfatici periferici, țesut limfoid asociat intestinului, splină, timus, sânge din cordonul ombilical, ganglionii limfatici mezenterici, ficatul, situsurile leziunilor imunologice, de exemplu, lichid sinovial, pancreas, lichid cefalorahidian, probe tumorale, țesut granulomatos sau orice altă sursă în care pot fi obținute astfel de celule. Într-o altă variantă de realizare, populațiile de celule sunt obținute din surse umane, care sunt, în alte variante de realizare, din surse umane fetale, neonatale, copil sau adult. Într-o altă variantă de realizare, populațiile de celule sunt obținute din surse animale, cum ar fi, de exemplu, porcine sau simiene, sau orice alt animal de interes. Într-o altă variantă de realizare, populațiile de celule sunt obținute de la subiecți care sunt normali, sau într-o altă variantă de realizare, bolnav, sau într-o altă variantă de realizare, susceptibil de o boală de interes.

Într-o altă variantă de realizare, populațiile de celule sunt separate prin metode de separare bazate pe afinitate. Tehnicile pentru separarea afinității includ, în alte variante de realizare, separarea magnetică, folosind mărele magnetice acoperite cu anticorpi, cromatografie de afinitate, agenți citotoxici uniți la un anticorp monoclonal sau utilizați împreună cu un anticorp monoclonal, de exemplu, complement și citotoxine și "panoramare" cu un anticorp atașat la o matrice solidă, cum ar fi o placă, sau orice altă tehnică convenabilă. În alte variante de realizare, tehnicile de separare includ utilizarea sortatoarelor de celule activate cu fluorescență, care pot avea grade diferite de sofisticare, cum ar fi canale de culoare multiple, canale de detectare a dispersiei luminii cu unghi redus și obtuz, canale de impedanță etc.

Într-o altă variantă de realizare, celulele dendritice provin din populația diversă de tipuri de celule morfologic similare găsite într-o varietate de țesuturi limfoide și nelimfoide, calificate ca atare (Steinman (1991) Ann. Rev. Immunol. 9:271-296). Într-o altă variantă de realizare, celulele dendritice sunt izolate din măduva osoasă, sau într-o altă variantă de realizare, derivate din celule progenitoare ale măduvei osoase, sau, într-o altă variantă de realizare, din izolate din/derivate din sânge periferic, sau într-o altă variantă de realizare, derivate din sau sunt o linie celulară.

Într-o altă variantă de realizare, populațiile de celule sunt izolate din fracția de leucocite a unui mamifer, cum ar fi un murin, simian sau un om (vezi, de exemplu, WO 96/23060). Fracția de leucocite poate fi, într-o altă variantă de realizare, izolată de sângele periferic al mamiferului.

Metodele de izolare a celulelor dendritice sunt bine-cunoscute în domeniu. Într-o altă variantă de realizare, DC sunt izolate printr-o metodă care include următoarele etape: (a) furnizarea unei fracții de leucocite obținute dintr-o sursă de mamifer prin metode cunoscute în domeniu, cum ar fi leucoforeza; (b) separarea fracției de leucocite din etapa (a) în patru sau mai multe subfracțiuni prin elutriere centrifugă contracurentă; (c) stimularea conversiei monocitelor într-una sau mai multe fracții de la etapa (b) la celule dendritice prin punerea în contact a celulelor cu ionofor de calciu, GM-CSF și IL-13 sau GM-CSF și IL-4, (d) identificarea fracției îmbogățite cu celule dendritice din etapa (c); și (e) colectarea fracției îmbogățite din etapa (d), de preferință la aproximativ 4°C.

Într-o altă variantă de realizare, fracția îmbogățită cu celule dendritice este identificată prin sortarea celulelor activate de fluorescență, care identifică, într-o altă variantă, cel puțin unul dintre următorii markeri: HLA-DR, HLA-DQ sau B7.2 și absența simultană a următorilor markeri: CD3, CD14, CD16, 56, 57 și CD 19, 20.

Într-o altă variantă de realizare, populația de celule cuprinde limfocite, care sunt, într-o altă variantă de realizare, celule T, sau într-o altă variantă de realizare, celule B. Celulele T sunt, în alte variante de realizare, caracterizate ca celule NK, celule T helper, limfocite T citotoxice (CTL), TIL, celule T naive sau combinații ale acestora. Trebuie înțeles că celulele T care sunt primare, sau linii celulare, clone etc., pot fi utilizate. Într-o altă variantă de realizare, celulele T sunt linii CTL sau CTL, clone CTL sau CTL-uri izolate de infiltrate tumorale, inflamatorii sau de altă natură.

Într-o altă variantă de realizare, populațiile de celule pot cuprinde celule stem hematopoietice sau celule progenitoare timpurii. Într-o altă variantă de realizare, astfel de populații sunt izolate sau

derivate, prin leucafereză. Într-o altă variantă de realizare, leucafereza urmează administrarea de citokine, din măduva osoasă, sânge periferic (PB) sau sânge neonatal din cordonul ombilical. Într-o altă variantă de realizare, celulele stem sau progenitoare sunt caracterizate prin expresia lor de suprafață a markerului antigen de suprafață cunoscut sub numele de CD34⁺ și excluderea expresiei markerilor de antigen de linie

5

de suprafață, Lin-. Într-o altă variantă de realizare, subiectului i se administrează combinația de agenți în combinație cu celulele măduvei osoase. Într-o altă variantă de realizare, administrarea împreună cu celule ale măduvei osoase urmează iradierea anterioară a subiectului, ca parte a cursului terapiei, pentru a suprima, inhiba sau trata cancerul la subiect.

10

Într-o altă variantă de realizare, combinația de agenți de tratament pentru utilizare în această invenție este administrată la un subiect în combinație cu alți compuși anticancerigeni și chimioterapice, inclusiv anticorpi monoclonali direcționați împotriva antigenelor alternative de cancer sau, într-o altă variantă de realizare, epitopii care constau dintr-o secvență AA care corespunde la sau parțial acelei din care derivă peptidele acestei invenții.

15

Așa cum sunt utilizați aici, termenii "pacient", "subiect" și "indiviz" sunt utilizați interschimbabil și sunt destinate să includă specii de animale umane și non-umane. De exemplu, subiectul poate fi un mamifer uman sau non-uman. În unele variante de realizare, subiectul este un model animal non-uman sau un pacient veterinar. Subiectul poate fi de orice vârstă sau sex.

20

O compoziție imunogenă a prezentei invenții cuprinde, într-o altă variantă de realizare, un APC asociat cu amestecul de peptide WT1.

20

O compoziție a prezentei invenții este, într-o altă variantă de realizare, o compoziție imunogenă. Într-o altă variantă de realizare, compoziția este o compoziție farmaceutică.

25

Diverse variante de realizare a intervalelor de dozare sunt avute în vedere prin această invenție. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 20 μg per peptidă pe zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 10 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 30 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 40 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 60 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 80 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 100 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 150 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 200 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 300 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 400 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 600 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 800 μg/peptidă/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 1000 μg/peptidă/zi.

30

Într-o altă variantă de realizare, doza este de 10 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 30 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 40 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 60 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 80 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 100 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 150 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 200 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 300 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 400 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 600 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 800 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 1000 μg/peptidă/doză.

35

40

Într-o altă variantă de realizare, doza este de 10-20 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 20-30 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 20-40 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 30-60 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 40-80 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 50-100 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 50-150 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 100-200 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 200-300 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 300-400 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 400-600 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 500-800 μg/peptidă/doză. Într-o altă variantă de realizare, doza este de 800-1000 μg/peptidă/doză.

45

50

Într-o altă variantă de realizare, cantitatea totală de peptidă pe doză sau pe zi este una dintre cantitățile de mai sus. Într-o altă variantă de realizare, doza totală de peptidă pe doză este una dintre cantitățile de mai sus.

EXEMPLU

55

Evaluarea eficacității vaccinului cu peptida WT1 administrat împreună cu nivolumab la pacienții cu cancer ovarian

Pacienții eligibili diagnosticați cu cancer ovarian vor începe programul de vaccinare în termen de 4 luni de la finalizarea chimioterapiei. Pacienții vor primi inițial 6 vaccinări cu peptide WT1 timp de 12 săptămâni și 7 perfuzii cu inhibitorul de checkpoint imunitar nivolumab timp de 14 săptămâni. Evaluările de toxicitate vor fi efectuate cu fiecare doză de vaccin și la 3 săptămâni după terminarea terapiei în săptămâna 15. Pacienții vor fi observați de către personalul studiului timp de până la 30 de

60

minute după tratament. Nu este planificată o creștere a dozei. Evaluările de rutină ale toxicității vor continua pe tot parcursul studiului.

Pacienților care nu au progresia bolii la evaluarea săptămânii 15 li se permite să primească 4 vaccinuri suplimentare administrate aproximativ la fiecare 8 săptămâni. Acest curs de vaccinare de întreținere va începe în săptămâna 19.

Răspunsurile imune vor fi evaluate din probe de sânge heparinizat de 40 ml la 6 momente separate: valoarea de referință (la consimțământ și înainte de prima doză pentru a determina variațiile inițiale), înaintea vaccinurilor 5 și 6, precum și la 3 săptămâni după ultima perfuzie cu nivolumab. Dacă este fezabil, se va obține o prelevare suplimentară de sânge la urmărirea de 3 luni.

Folosind ELISA, vor fi măsurate nivelurile de anticorpi generate împotriva celor 4 peptide WT1 din vaccin. Anticorpii sunt în general prezenți la finalizarea celei de-a patra vaccinări. Testele de răspuns proliferativ al celulelor T vor fi efectuate pe limfocite din sângele periferic, inclusiv: citometrie în flux pentru analiza fenotipică cu FACS, inclusiv analiza subgrupului de leucocite, testul celulelor T reglatoare (inclusiv CD3, CD4, CD8, FOXP3, ICOS și PD1) și celule supresoare derivate mieloid (MDSC, celule CD14+HLA-DRlow) în sângele periferic și, de asemenea, în tumoră (dacă se obține biopsie opțională). Răspunsul proliferativ CD4 și CD8 specific celulelor T WT1 va fi măsurat utilizând colorarea polifuncțională cu citokine intracelulare (ICS) și teste de citotoxicitate bazate pe citometrie în flux utilizând Sistemul Meso Scale Discovery cu funcționalitatea măsurată prin producția de IFN-gamma. Procedurile detaliate pentru prelucrarea probelor de sânge, monitorizarea celulelor T, ELISA anticorpilor și analiza celulelor T polifuncționale sunt descrise în [29].

Valorile de referință și rezultatele răspunsului celulelor T vor fi corelate cu durata remisiunii clinice.

Dacă un pacient este scos din studiu înainte de săptămâna 15, se va obține sânge pentru studii imunologice post-studiu. O scanare CT va fi efectuată la momentul inițial și în săptămâna 15 (sau mai devreme dacă se consideră că este necesar din punct de vedere medical) și ulterior la fiecare 3 luni timp de până la 1 an până la progresia bolii. RMN-ul abdomenului și al pelvisului pot fi utilizate în locul CT-ului abdomenului și al pelvisului. Radiologul de referință va folosi criteriile de răspuns imun pentru a determina progresia bolii [57]. CA125 va fi obținut la momentul inițial, în săptămânile 6 și 15 și apoi la fiecare 3 luni, timp de până la 1 an, până la progresia bolii. CA125 nu va fi utilizat pentru a determina progresia bolii din cauza posibilității confuze de inflamație la pacienții vaccinați. Pacienții vor rămâne în studiu până la momentul progresiei, dezvoltării toxicității inacceptabile, încheierii secvenței vaccinului sau retragerii pacientului.

Vaccin WT1: Vaccinul care va fi utilizat în acest studiu conține patru peptide WT1 separate:

- YMFNPAPYL (SEQ ID NO:124; WT1-A1): Peptidă HLA clasa I cu un aminoacid mutant R126Y pentru a stimula răspunsurile CD8+.
- SGQAYMFNPAPYLPSCLES (SEQ ID NO:125; WT1-122A1 long): Peptidă HLA clasa II care conține o secvență heteroclitică WT1-A1 încorporată în peptida mai lungă pentru a stimula atât răspunsurile CD4+ cât și CD8+ conform datelor din studiile preclinice și de fază I.
- RSDELVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1; WT1-427 long) și PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO:2; WT1-331 long): Peptide HLA clasa II care induc răspunsuri CD4+ care ar putea oferi ajutor pentru răspunsuri de lungă durată a celulelor T CD8+.

Produs Medicamentos: Cele patru peptide sunt furnizate într-o soluție sterilă cu soluție salină tamponată cu fosfat pentru a produce produsul vaccin ("WT1 Vax"). Fiecare flacon conține 280 mcg din fiecare peptidă într-un volum total de 0,7 ml (0,4 mg/ml din fiecare peptidă, supraumplere de 40%). Au fost efectuate umplerea flacoanelor în condiții GMP și teste de sterilitate. Emulsia de vaccin va fi preparată individual înainte de utilizare. Acest lucru va necesita amestecul soluției de peptide cu adjuvantul imunologic Montanide ISA 51 VG.

Doza intenționată: Doza de 200 mcg pentru fiecare peptidă este aleasă deoarece se află în intervalul de doze sigure și active utilizate de alții. Vaccinurile cu peptide au generat răspunsuri imune și clinice într-o gamă largă de doze (100-2000 mcg injectate) fără dovezi clare ale relațiilor doză-răspuns. Dozele mai mari au posibilitatea teoretică de a stimula TCR cu afinitate mai mică pe celulele T și de a produce un răspuns redus [30, 33, 34]. Dimensiune flacon: Fiecare flacon cu doză unică conține 0,7 ml

Cale de Administrare: Subcutanat

Nivolumab: Doza intenționată: 3mg/kg; Dimensiune flacon: 10 ml; Calea de administrare: Intravenos. Nivolumab va fi dozat la 3 mg/kg și administrat intravenos sub formă de perfuzie IV de 60 de minute o dată la 2 săptămâni. La sfârșitul perfuziei, clătiți linia cu o cantitate suficientă de ser fiziologic normal. Dacă greutatea subiectului diferă > 10% față de greutatea anterioară utilizată pentru a calcula doza necesară, trebuie calculată o doză necesară, o doză corectată. Nu vor fi permise creșteri sau reduceri ale dozei de nivolumab. Nu există premedicații recomandate pentru primul tratament cu nivolumab.

Subiecții pot fi administrați la cel puțin 12 zile între dozele de nivolumab și la cel mult 3 zile după data programată de administrare. Doza administrată după intervalul de 3 zile este considerată o întârziere a dozei. Tratamentul poate fi amânat cu maximum 6 săptămâni de la doza anterioară.

Evaluările tumorii prin CT sau RMN trebuie să continue conform protocolului, chiar dacă dozarea este întârziată.

PLAN DE TRATAMENT/INTERVENȚIE

- Pacienții vor fi tratați ca ambulatori.
- Vaccinurile WT1 vor fi administrate în săptămânile 0, 2, 4, 6, 8 și 10.
- Toate injecțiile vor fi administrate subcutanat cu situsuri care se rotesc între extremități.
- Toți pacienții vor primi Sargramostim (GM-CSF) 70 mcg injectat subcutanat în zilele 0 și -2. Pacienții se pot administra singuri GM-CSF dacă au fost instruiți în mod corespunzător cu privire la administrarea injecției SQ. Pacienții vor fi informați cu privire la reacțiile așteptate, cum ar fi iritația la situsul injectării. Pacienții vor ține un jurnal în care notează ora și locul injectării.
- Pacienții vor primi, de asemenea, 1,0 ml de emulsie de peptide WT1 cu Montanide. Va fi administrat de o asistentă (poate să nu fie autoadministrat) subcutanat, în același situs anatomic cu GM-CSF.
- Pacienții vor fi observați aproximativ 30 de minute după vaccinare.
- Nivolumab va fi administrat intravenos sub formă de perfuzie de 60 de minute în săptămânile 0, 2, 4, 6, 8, 10 și 12. Subiecții pot fi administrați la cel puțin 12 zile între dozele de nivolumab și la cel mult 3 zile după data programată de administrare. Doza administrată după intervalul de 3 zile este considerată o întârziere a dozei. Tratamentul poate fi amânat cu maximum 6 săptămâni de la doza anterioară.

Tratamentul combinat al vaccinului WT1 și nivolumab este de așteptat să crească populația de CTL specifică WT1 la pacient și să permită o activitate crescută împotriva tumorii care exprimă WT1, în comparație cu vaccinarea WT1 în monoterapie sau tratamentul cu nivolumab în monoterapie.

REFERINȚE

1. Siegel, R., D. Naishadham, și A. Jemal, Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2012. 62(1): p. 10-29.
2. Hoskins, W.J., C.A. Perez, și R.C. Young, Principles and practice of gynecologic oncology. 3rd ed. 2000, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. xxi, 1268 p.
3. Barnhill, D.R., și colab., The second-look surgical reassessment for epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*, 1984. 19(2): p. 148-54.
4. Rubin, S.C., și colab., Recurrence after negative second-look laparotomy for ovarian cancer: analysis of risk factors. *Am J Obstet Gynecol*, 1988. 159(5): p. 1094-8.
5. Markman, M., și colab., Second-line platinum therapy in patients with ovarian cancer previously treated with cisplatin. *J Clin Oncol*, 1991. 9(3): p. 389-93.
6. Zhang, H., și colab., Antibodies against GD2 ganglioside can eradicate syngeneic cancer micrometastases. *Cancer Res*, 1998. 58(13): p. 2844-9.
7. Zhang, L., și colab., Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med*, 2003. 348(3): p. 203-13.
8. Curiel, T.J., și colab., Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med*, 2004. 10(9): p. 942-9.
9. Iasonos, A., și colab., Identifying clinical improvement in consolidation single-arm phase 2 trials in patients with ovarian cancer in second or greater clinical remission. *Int J Gynecol Cancer*, 2012. 22(1): p. 63-9.
10. Berek, J.S., și colab., Randomized, placebo-controlled study of oregovomab for consolidation of clinical remission in patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol*, 2004. 22(17): p. 3507-16.
11. Reinartz, S., și colab., Vaccination of patients with advanced ovarian carcinoma with the anti-idiotypic ACA125: immunological response and survival (phase Ib/II). *Clin Cancer Res*, 2004. 10(5): p. 1580-7.
12. Bookman, M.A., și colab., Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group. *J Clin Oncol*, 2003. 21(2): p. 283-90.
13. Allavena, P., și colab., Intraperitoneal recombinant gamma-interferon in patients with recurrent ascitic ovarian carcinoma: modulation of cytotoxicity and cytokine production in tumor-

associated effectors and of major histocompatibility antigen expression on tumor cells. *Cancer Res*, 1990. 50(22): p. 7318-23.

14. Pujade-Lauraine, E., și colab., Intraperitoneal recombinant interferon gamma in ovarian cancer patients with residual disease at second-look laparotomy. *J Clin Oncol*, 1996. 14(2): p. 343-50.

15. Recchia, F., și colab., Interleukin-2 and 13-cis retinoic acid as maintenance therapy in advanced ovarian cancer. *Int J Oncol*, 2005. 27(4): p. 1039-46.

16. Sabbatini, P.J., și colab., Immunization of ovarian cancer patients with a synthetic Lewis(y)-protein conjugate vaccine: a phase 1 trial. *Int J Cancer*, 2000. 87(1): p. 79-85.

17. Nicholson, S., și colab., A phase I trial of idiotype vaccination with HMFG1 in ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 2004. 53(9): p. 809-16.

18. Diefenbach, C.S., și colab., Safety and immunogenicity study of NY-ESO-1b peptide and montanide ISA-51 vaccination of patients with epithelial ovarian cancer in high-risk first remission. *Clin Cancer Res*, 2008. 14(9): p. 2740-8.

19. Keilholz, U., și colab., Wilms' tumour gene 1 (WT1) in human neoplasia. *Leukemia*, 2005. 19(8): p. 1318-23.

20. Oji, Y., și colab., Expression of the Wilms' tumor gene WT1 in solid tumors and its involvement in tumor cell growth. *Jpn J Cancer Res*, 1999. 90(2): p. 194-204.

21. Scharnhorst, V., și colab., Internal translation initiation generates novel WT1 protein isoforms with distinct biological properties. *J Biol Chem*, 1999. 274(33): p. 23456-62.

22. Haber, D.A., și colab., Alternative splicing and genomic structure of the Wilms tumor gene WT1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. 88(21): p. 9618-22.

23. Mundlos, S., și colab., Nuclear localization of the protein encoded by the Wilms' tumor gene WT1 in embryonic and adult tissues. *Development*, 1993. 119(4): p. 1329-41.

24. Buckler, A.J., și colab., Isolation, characterization, and expression of the murine Wilms' tumor gene (WT1) during kidney development. *Mol Cell Biol*, 1991. 11(3): p. 1707-12.

25. Fraizer, G.C., și colab., Expression of the tumor suppressor gene WT1 in both human and mouse bone marrow. *Blood*, 1995. 86(12): p. 4704-6.

26. Al-Hussaini, M., și colab., WT1 assists in distinguishing ovarian from uterine serous carcinoma and in distinguishing between serous and endometrioid ovarian carcinoma. *Histopathology*, 2004. 44(2): p. 109-15.

27. Pinilla-Ibarz, J., și colab., Improved human T-cell responses against synthetic HLA-0201 analog peptides derived from the WT1 oncoprotein. *Leukemia*, 2006. 20(11): p. 2025-33.

28. May, R.J., și colab., Peptide epitopes from the Wilms' tumor 1 oncoprotein stimulate CD4+ and CD8+ T cells that recognize and kill human malignant mesothelioma tumor cells. *Clin Cancer Res*, 2007. 13(15 Pt 1): p. 4547-55.

29. Krug, L.M., și colab., WT1 peptide vaccinations induce CD4 and CD8 T cell immune responses in patients with mesothelioma and non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 2010. 59(10): p. 1467-79.

30. Oka, Y., și colab., Induction of WT1 (Wilms' tumor gene)-specific cytotoxic T lymphocytes by WT1 peptide vaccine and the resultant cancer regression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. 101(38): p. 13885-90.

31. Letsch, A., și colab., Effect of vaccination of leukemia patients with a MHC class I peptide of Wilms tumor gene 1 (WT1) peptide with unspecific T helper stimulation on WT1-specific IgM responses and on IgG responses. *J Clin Oncol*, 2008. 26: p. Abstr 3054.

32. Ohno, S., și colab., Wilms' tumor 1 (WT1) peptide immunotherapy for gynecological malignancy. *Anticancer Res*, 2009. 29(11): p. 4779-84.

33. Schaed, S.G., și colab., T-cell responses against tyrosinase 368-376(370D) peptide in HLA* A0201+ melanoma patients: randomized trial comparing incomplete Freund's adjuvant, granulocyte macrophage colony-stimulating factor, and QS-21 as immunological adjuvants. *Clin Cancer Res*, 2002. 8(5): p. 967-72.

34. Slingluff, C.L., Jr., și colab., Clinical and immunologic results of a randomized phase II trial of vaccination using four melanoma peptides either administered in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adjuvant or pulsed on dendritic cells. *J Clin Oncol*, 2003. 21(21): p. 4016-26.

35. Faries, M.B., și colab., Effect of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor on vaccination with an allogeneic whole-cell melanoma vaccine. *Clin Cancer Res*, 2009. 15(22): p. 7029-35.

36. Keilholz, U., și colab., A clinical and immunologic phase 2 trial of Wilms tumor gene product 1 (WT1) peptide vaccination in patients with LMA and MDS. *Blood*, 2009. 113(26): p. 6541-8.

37. Weber, J., și colab., Granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor added to a multi-peptide vaccine for resected Stage II melanoma. *Cancer*, 2003. 97(1): p. 186-200.

38. Keir, M.E., și colab., PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*, 2008. 26: p. 677-704.

39. Freeman, G.J., și colab., Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med*, 2000. 192(7): p. 1027-34.
40. Latchman, Y., și colab., PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol*, 2001. 2(3): p. 261-8.
- 5 41. Hamanishi, J., și colab., Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. 104(9): p. 3360-5.
42. Mu, C.Y., și colab., High expression of PD-L1 in lung cancer may contribute to poor prognosis and tumor cells immune escape through suppressing tumor infiltrating dendritic cells maturation. *Med Oncol*, 2011. 28(3): p. 682-8.
- 10 43. Pardoll, D.M., The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2012. 12(4): p. 252-64.
44. Nivolumab (BMS-936558) Investigator Brochure, Version 12. 2013.
- 15 45. Hwang, W.T., și colab., Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol*, 2012. 124(2): p. 192-8.
46. Matsuzaki, J., și colab., Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8+ T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010. 107(17): p. 7875-80.
- 20 47. Brahmer, J.R., și colab., Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*, 2012. 366(26): p. 2455-65.
48. Page, D.B., și colab., Immune modulation in cancer with antibodies. *Annu Rev Med*, 2014. 65: p. 185-202.
49. Harrison, M.L., și colab., Duration of second or greater complete clinical remission in ovarian cancer: exploring potential endpoints for clinical trials. *Gynecol Oncol*, 2007. 106(3): p. 469-75.
- 25 50. Juretzka, M., și colab., A phase 2 trial of oral imatinib in patients with epithelial ovarian, fallopian tube, or peritoneal carcinoma in second or greater remission. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2008. 29(6): p. 568-72.
51. Levine, D., și colab., A phase II evaluation of goserelin and bicalutamide in patients with ovarian cancer in second or higher complete clinical disease remission. *Cancer*, 2007. 110(11): p. 2448-56.
- 30 52. Walter, S., și colab., Multi-peptide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival. *Nat Med*, 2012.
53. Wolchok, J.D., și colab., Development of ipilimumab: a novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma. *Ann N Y Acad Sci*, 2013. 1291(1): p. 1-13.
- 35 54. Hodi, F.S., și colab., Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. 105(8): p. 3005-10.
55. Quezada, S.A., și colab., CTLA4 blockade and GM-CSF combination immunotherapy alters the intratumor balance of effector and regulatory T cells. *J Clin Invest*, 2006. 116(7): p. 1935-45.
- 40 56. Duraiswamy, J., și colab., Dual blockade of PD-1 and CTLA-4 combined with tumor vaccine effectively restores T-cell rejection function in tumors. *Cancer Res*, 2013. 73(12): p. 3591-603.
57. Wolchok, J.D., și colab., Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res*, 2009. 15(23): p. 7412-20.
- 45 58. Dupont, J., și colab., Wilms Tumor Gene (WT1) and p53 expression in endometrial carcinomas: a study of 130 cases using a tissue microarray. *Gynecol Oncol*, 2004. 94(2): p. 449-55.
59. Eisenhauer, E.A., și colab., New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*, 2009. 45(2): p. 228-47.
60. Maslak, P.G., și colab., Vaccination with synthetic analog peptides derived from WT1 oncoprotein induces T-cell responses in patients with complete remission from acute myeloid leukemia. *Blood*, 2010. 116(2): p. 171-179.
- 50

LISTA DE SECVENȚE

<110> Memorial Sloan Kettering Cancer Center

<120> METODE ȘI COMPOZIȚII PENTRU TRATAREA CANCERULUI

<130> P-79550-EP

<140> EP 16867262.4

<141> 18-11-2016

<150> US 62/258134

<151> 20-11-2015

<160> 204

<170> PatentIn versiunea 3.5

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Arg	Ser	Asp	Glu	Leu	Val	Arg	His	His	Asn	Met	His	Gln	Arg	Asn	Met
1				5					10					15	

Thr Lys Leu

<210> 2

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Pro	Gly	Cys	Asn	Lys	Arg	Tyr	Phe	Lys	Leu	Ser	His	Leu	Gln	Met	His
1				5					10					15	

Ser	Arg	Lys	His	Thr	Gly
			20		

<210> 3

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Leu	Val	Arg	His	His	Asn	Met	His	Gln	Arg	Asn	Met	Thr	Lys	Leu
1				5					10					15

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Asn	Lys	Arg	Tyr	Phe	Lys	Leu	Ser	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Arg
1				5					10					15

<210> 5

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ser	Gly	Gln	Ala	Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys
1				5					10					15	

Leu	Glu	Ser
-----	-----	-----

<210> 6

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Gln	Ala	Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys	Leu
1				5					10					15

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu
1				5				

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Gln	Tyr	Ser	Val
1				5				

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Val	Pro	Ser	Leu
			1				5	

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5				

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val
1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Gly Val Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val
1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu
1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Ser
1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Cys	Met	Thr	Trp	Met	Gln	Met	Asn	Leu
1				5				

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Asn	Met	His	Gln	Arg	Asn	Met	Thr	Lys
1				5				

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys
1				5				

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys
1				5					10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

30

Lys	Leu	Ser	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Arg
1				5					10

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu
1				5				

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 21

Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu
1				5				

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 22

Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu
1				5				

<210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 24

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala
1				5					10					15

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 26

Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala
1				5					10					15

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5				10						15

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala
1				5					10					15

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 30

Met	Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 31

Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala
1				5					10					15

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 32

Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala
1				5					10					15

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Met	Thr	Trp	Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 34

Thr	Trp	Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala
1				5					10					15

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15	

Ala

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr
1				5				

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala
1				5				

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly
1				5				

<210> 39

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 39

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15	

Ala

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 40

Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr
1				5				

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 41

Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5				

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly
1				5				

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 43

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15	

Ala

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5				

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly
1				5				

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Gly	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Gly	Tyr	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Leu

1

5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Tyr Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys

1

5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Gly Leu Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys

1

5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Arg Gln Arg Pro His Pro Gly Ala Leu

1

5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Arg	Tyr	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Tyr	Gln	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Arg	Leu	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Arg	Ile	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Gly	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Gly	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Leu
1				5				

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Arg	Gln	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Arg	Leu	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Arg	Ile	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 61

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Gln	Phe	Pro	Asn	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln
1				5					10					15

<210> 62

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Gln	Phe	Pro	Asn	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln
1				5					10					15

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met
	1				5				

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Tyr
	1				5				

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Lys
1				5				

<210> 66

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Tyr	Lys	Arg	Tyr
1				5					10					15

<210> 67

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Ser	Glu	Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys
1				5					10					15

<210> 68

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys
1				5					10			

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn
1				5				

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Tyr
1				5				

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Lys
1				5				

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Arg	Gln	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Gly	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Pro	Leu	Pro	His	Phe	Pro	Pro	Ser	Leu
1				5				

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

His	Phe	Pro	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Thr
1				5				

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Thr	His	Ser	Pro	Thr	His	Pro	Pro	Arg
1				5				

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Ala Ile Leu Asp Phe Leu Leu Leu Gln
1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Pro Gly Cys Leu Gln Gln Pro Glu Gln
1 5

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Pro Gly Cys Leu Gln Gln Pro Glu Gln Gln Gly
1 5 10

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Lys Leu Gly Ala Ala Glu Ala Ser Ala
1 5

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

45

Ala	Ser	Gly	Ser	Glu	Pro	Gln	Gln	Met
1				5				

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

Arg	Asp	Leu	Asn	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Val
1				5					10

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Gly	Gly	Cys	Ala	Leu	Pro	Val	Ser	Gly	Ala
1				5					10

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Gly	Ala	Ala	Gln	Trp	Ala	Pro	Val	Leu
1				5				

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Leu	Asp	Phe	Ala	Pro	Pro	Gly	Ala	Ser
1				5				

<210> 86

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Leu	Asp	Phe	Ala	Pro	Pro	Gly	Ala	Ser	Ala	Tyr
1				5					10	

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Ser	Ala	Tyr	Gly	Ser	Leu	Gly	Gly	Pro
1				5				

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Pro	Ala	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro
1				5				

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Ala	Cys	Arg	Tyr	Gly	Pro	Phe	Gly	Pro
1				5				

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Ser	Gly	Gln	Ala	Arg	Met	Phe	Pro	Asn
1				5				

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu
1				5				

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Pro	Ser	Cys	Leu	Glu	Ser	Gln	Pro	Ala
1				5				

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Asn	Gln	Gly	Tyr	Ser	Thr	Val	Thr	Phe
1				5				

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

His	His	Ala	Ala	Gln	Phe	Pro	Asn	His
1				5				

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met
1				5				

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Cys	His	Thr	Pro	Thr	Asp	Ser	Cys	Thr
1				5				

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Cys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Leu	Leu	Leu
1				5				

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Thr	Asp	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala
1				5				

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Arg	Thr	Pro	Tyr	Ser	Ser	Asp	Asn	Leu
1				5				

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Asn	Leu	Tyr	Gln	Met	Thr	Ser	Gln	Leu	Glu
1				5					10

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr
1				5				

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 102

Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu
1				5				

<210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys
1				5					10	

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5				

<210> 106

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

51

Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala
1				5					10

<210> 107

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Thr	Leu	Gly	Val	Ala	Ala	Gly	Ser
1				5			

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Gly	Tyr	Glu	Ser	Asp	Asn	His	Thr	Thr
1				5				

<210> 109

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys
1				5					10

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys
1				5					10	

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp His Leu**1****5**

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Leu Lys Thr His Thr Thr Arg Thr His Thr**1****5****10**

<210> 113

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Asn Met His Gln Arg Asn His Thr Lys Leu**1****5****10**

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Leu Leu Ala Ala Ile Leu Asp Phe Leu**1****5**

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Cys	Leu	Gln	Gln	Pro	Glu	Gln	Gln	Gly	Val
1				5					10

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

Asp	Leu	Asn	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Val
1				5				

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Val	Pro	Ser	Leu
1				5				

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

Val	Leu	Asp	Phe	Ala	Pro	Pro	Gly	Ala
1				5				

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu
1				5				

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Gln	Ala	Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr
1				5					10

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys	Pro	Leu
1				5					10

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys	Arg	Tyr	Phe
1				5				

<210> 123

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Ala	Pro	Val	Leu	Asp	Phe	Ala	Pro	Pro	Gly	Ala	Ser	Ala	Tyr	Gly
1				5					10					15

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 124

	Tyr	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu
	1					5			

<210> 125

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 125

Ser	Gly	Gln	Ala	Tyr	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys
1				5					10					15	

Leu	Glu	Ser
------------	------------	------------

<210> 126

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutant

<400> 126

Gln	Ala	Tyr	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys	Leu
1				5					10					15

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Tyr	Leu	Gly	Glu	Gln	Gln	Tyr	Ser	Val
1				5				

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Tyr	Leu	Leu	Pro	Ala	Val	Pro	Ser	Leu
1				5				

<210> 129

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Tyr	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5				

<210> 130

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Tyr	Leu	Asn	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Val
1				5				

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Gly	Leu	Arg	Arg	Gly	Ile	Gln	Asp	Val
1				5				

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Lys	Leu	Tyr	Phe	Lys	Leu	Ser	His	Leu
1				5				

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Ala	Leu	Leu	Leu	Arg	Thr	Pro	Tyr	Val
1				5				

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Tyr	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu
1				5				

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

58

Asn	Met	Tyr	Gln	Arg	Asn	Met	Thr	Lys
1				5				

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Asn	Met	His	Gln	Arg	Val	Met	Thr	Lys
1				5				

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Asn	Met	Tyr	Gln	Arg	Val	Met	Thr	Lys
1				5				

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

Gln	Met	Tyr	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys
1				5				

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Val	Thr	Leu	Lys
1				5				

<210> 140

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

Gln	Met	Tyr	Leu	Gly	Val	Thr	Leu	Lys
1				5				

<210> 141

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 141

Phe	Met	Tyr	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys
1				5					10

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 142

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Phe	Cys	Asn	Lys
1				5					10

<210> 143

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 143

Phe	Met	Tyr	Ala	Tyr	Pro	Phe	Cys	Asn	Lys
1				5					10

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 144

Lys	Leu	Tyr	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Arg
1				5					10

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

Lys	Leu	Ser	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Lys
1				5					10

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

Lys	Leu	Tyr	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Lys
1				5					10

<210> 147

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 147

Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu
1				5				

<210> 148

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 148

Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu
1				5				

<210> 149

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu
1				5				

<210> 150

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 150

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15

<210> 151

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15

<210> 152

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala
1				5					10					15

<210> 153

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala
1				5					10					15

<210> 154

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15

<210> 155

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala
1				5					10					15

<210> 156

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15

<210> 157

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Met	Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15

<210> 158

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala
1				5					10					15

<210> 159

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala
1				5					10					15

<210> 160

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

64

Met	Thr	Trp	Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15

<210> 161

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

Thr	Trp	Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala
1				5					10					15

<210> 162

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 162

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15	

Ala

<210> 163

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 163

	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr
	1				5				

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala
1				5				

<210> 165

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly
1				5				

<210> 166

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15	

Ala

<210> 167

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Trp	Asn	Leu	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr
1				5				

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5				

<210> 169

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly
1				5				

<210> 170

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val
1				5					10					15	

Ala

<210> 171

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly
1				5				

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly
1				5				

<210> 173

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

Gly	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 174

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

Gly	Tyr	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 175

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

Gly	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Leu
1				5				

<210> 176

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

Tyr	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Gly	Leu	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 178

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

Arg	Gln	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 179

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

Arg	Tyr	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 180

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

Tyr	Gln	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

Arg	Leu	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 182

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

Arg	Ile	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 183

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

Gly	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Cys
1				5				

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

Gly	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ala	Leu
1				5				

<210> 185

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

Arg	Gln	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 186

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

Arg	Leu	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 187

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

Arg	Ile	Arg	Pro	His	Pro	Gly	Ala	Leu
1				5				

<210> 188

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

Gln	Phe	Pro	Asn	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln
1				5					10					15

<210> 189

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

Gln	Phe	Pro	Asn	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln
1				5					10					15

<210> 190

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 190

	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met
	1				5				

<210> 191

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Tyr
	1				5				

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 192

	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Lys
	1				5				

<210> 193

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Tyr	Lys	Arg	Tyr
1				5					10					15

<210> 194

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

Ser	Glu	Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys
1				5					10					15

<210> 195

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys
1				5					10			

<210> 196

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 196

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn
1				5				

<210> 197

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 197

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Tyr
1				5				

<210> 198

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 198

Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Lys
1				5				

<210> 199

<211> 449

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 199

Met	Gly	Ser	Asp	Val	Arg	Asp	Leu	Asn	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Val	Pro
1				5					10					15	

Ser	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys	Ala	Leu	Pro	Val	Ser	Gly	Ala	Ala
		20						25					30		

Gln	Trp	Ala	Pro	Val	Leu	Asp	Phe	Ala	Pro	Pro	Gly	Ala	Ser	Ala	Tyr
		35					40					45			

Gly	Ser	Leu	Gly	Gly	Pro	Ala	Pro	Pro	Pro	Ala	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro
	50					55					60				

Pro	Pro	Pro	Pro	His	Ser	Phe	Ile	Lys	Gln	Glu	Pro	Ser	Trp	Gly	Gly
65					70					75					80

Ala	Glu	Pro	His	Glu	Glu	Gln	Cys	Leu	Ser	Ala	Phe	Thr	Val	His	Phe
				85					90					95	

Ser	Gly	Gln	Phe	Thr	Gly	Thr	Ala	Gly	Ala	Cys	Arg	Tyr	Gly	Pro	Phe
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

74

	100						105						110					
Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Gly	Gln	Ala	Arg	Met	Phe			
		115					120					125						
Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys	Leu	Glu	Ser	Gln	Pro	Ala	Ile			
	130					135					140							
Arg	Asn	Gln	Gly	Tyr	Ser	Thr	Val	Thr	Phe	Asp	Gly	Thr	Pro	Ser	Tyr			
145					150					155					160			
Gly	His	Thr	Pro	Ser	His	His	Ala	Ala	Gln	Phe	Pro	Asn	His	Ser	Phe			
				165					170					175				
Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln	Gln	Gly	Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Gln			
			180					185					190					
Tyr	Ser	Val	Pro	Pro	Pro	Val	Tyr	Gly	Cys	His	Thr	Pro	Thr	Asp	Ser			
		195					200					205						
Cys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Leu	Leu	Leu	Arg	Thr	Pro	Tyr	Ser	Ser	Asp			
	210					215					220							
Asn	Leu	Tyr	Gln	Met	Thr	Ser	Gln	Leu	Glu	Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln			
225					230					235					240			
Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala	Gly	Ser	Ser	Ser			
				245					250					255				
Ser	Val	Lys	Trp	Thr	Glu	Gly	Gln	Ser	Asn	His	Ser	Thr	Gly	Tyr	Glu			
			260					265					270					
Ser	Asp	Asn	His	Thr	Thr	Pro	Ile	Leu	Cys	Gly	Ala	Gln	Tyr	Arg	Ile			
		275					280					285						
His	Thr	His	Gly	Val	Phe	Arg	Gly	Ile	Gln	Asp	Val	Arg	Arg	Val	Pro			
	290					295					300							
Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Leu	Val	Arg	Ser	Ala	Ser	Glu	Thr	Ser	Glu	Lys			
305					310					315					320			
Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys	Arg	Tyr	Phe	Lys			
				325					330					335				
Leu	Ser	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Arg	Lys	His	Thr	Gly	Glu	Lys	Pro			
			340					345					350					

Tyr Gln Cys Asp Phe Lys Asp Cys Glu Arg Arg Phe Ser Arg Ser Asp
 355 360 365

Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg His Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln
 370 375 380

Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp His Leu Lys Thr
 385 390 395 400

His Thr Arg Thr His Thr Gly Lys Thr Ser Glu Lys Pro Phe Ser Cys
 405 410 415

Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser Asp Glu Leu Val
 420 425 430

Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys Leu Gln Leu Ala
 435 440 445

Leu

<210> 200

<211> 453

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 200

Ala Ala Glu Ala Ser Ala Glu Arg Leu Gln Gly Arg Arg Ser Arg Gly
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Ser Glu Pro Gln Gln Met Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu
 20 25 30

Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val Pro Ser Leu Gly Gly Gly Gly Gly Cys
 35 40 45

Ala Leu Pro Val Ser Gly Ala Ala Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe
 50 55 60

Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro
 65 70 75 80

Pro Pro Ala Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ser Phe Ile
 85 90 95

Lys Gln Glu Pro Ser Trp Gly Gly Ala Glu Pro His Glu Glu Gln Cys
 100 105 110

Leu	Ser	Ala	Phe	Thr	Val	His	Phe	Ser	Gly	Gln	Phe	Thr	Gly	Thr	Ala
		115					120					125			
Gly	Ala	Cys	Arg	Tyr	Gly	Pro	Phe	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	Gln	Ala
	130					135					140				
Ser	Ser	Gly	Gln	Ala	Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser
145					150					155					160
Cys	Leu	Glu	Ser	Gln	Pro	Ala	Ile	Arg	Asn	Gln	Gly	Tyr	Ser	Thr	Val
				165					170					175	
Thr	Phe	Asp	Gly	Thr	Pro	Ser	Tyr	Gly	His	Thr	Pro	Ser	His	His	Ala
			180					185					190		
Ala	Gln	Phe	Pro	Asn	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln
		195					200					205			
Gln	Gly	Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Gln	Tyr	Ser	Val	Pro	Pro	Pro	Val	Tyr
	210					215					220				
Gly	Cys	His	Thr	Pro	Thr	Asp	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Leu	Leu
225					230					235					240
Leu	Arg	Thr	Pro	Tyr	Ser	Ser	Asp	Asn	Leu	Tyr	Gln	Met	Thr	Ser	Gln
				245					250					255	
Leu	Glu	Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys
			260					265					270		
Gly	His	Ser	Thr	Gly	Tyr	Glu	Ser	Asp	Asn	His	Thr	Thr	Pro	Ile	Leu
		275					280					285			
Cys	Gly	Ala	Gln	Tyr	Arg	Ile	His	Thr	His	Gly	Val	Phe	Arg	Gly	Ile
	290					295					300				
Gln	Asp	Val	Arg	Arg	Val	Pro	Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Leu	Val	Arg	Ser
305					310					315					320
Ala	Ser	Glu	Thr	Ser	Glu	Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly
				325					330					335	
Cys	Asn	Lys	Arg	Tyr	Phe	Lys	Leu	Ser	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Arg
			340					345					350		
Lys	His	Thr	Gly	Glu	Lys	Pro	Tyr	Gln	Cys	Asp	Phe	Lys	Asp	Cys	Glu
		355					360					365			

Arg Arg Phe Ser Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg His
370 375 380

Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser
385 390 395 400

Arg Ser Asp His Leu Lys Thr His Thr Arg Thr His Thr Gly Glu Lys
405 410 415

Pro Phe Ser Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser
420 425 430

Asp Glu Leu Val Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys
435 440 445

Leu Gln Leu Ala Leu
450

<210> 201

<211> 514

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 201

Met Gln Asp Pro Ala Ser Thr Cys Val Pro Glu Pro Ala Ser Gln His
1 5 10 15

Thr Leu Arg Ser Gly Pro Gly Cys Leu Gln Gln Pro Glu Gln Gln Gly
20 25 30

Val Arg Asp Pro Gly Gly Ile Trp Ala Lys Leu Gly Ala Ala Glu Ala
35 40 45

Ser Ala Glu Arg Leu Gln Gly Arg Arg Ser Arg Gly Ala Ser Gly Ser
50 55 60

Glu Pro Gln Gln Met Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu
65 70 75 80

Pro Ala Val Pro Ser Leu Gly Gly Gly Gly Gly Cys Ala Leu Pro Val
85 90 95

Ser Gly Ala Ala Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly
100 105 110

Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro Pro Pro Ala Pro
115 120 125

MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

78

Pro 130	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	His	Ser	Phe	Ile	Lys	Gln	Glu	Pro
				Ala	Glu	Pro	His	Glu	Glu	Gln	Cys	Leu	Ser	Ala	Phe
Ser 145	Trp	Gly	Gly		150					155					160
				Ser	Gly	Gln	Phe	Thr	Gly	Thr	Ala	Gly	Ala	Cys	Arg
	Val	His	Phe	165					170					175	
Tyr	Gly	Pro	Phe	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Gly	Gln
			180					185					190		
Ala	Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys	Leu	Glu	Ser
		195					200					205			
Gln	Pro	Ala	Ile	Arg	Asn	Gln	Gly	Tyr	Ser	Thr	Val	Thr	Phe	Asp	Gly
	210					215					220				
Thr	Pro	Ser	Tyr	Gly	His	Thr	Pro	Ser	His	His	Ala	Ala	Gln	Phe	Pro
225					230					235					240
Asn	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln	Gln	Gly	Ser	Leu
				245					250					255	
Gly	Glu	Gln	Gln	Tyr	Ser	Val	Pro	Pro	Pro	Val	Tyr	Gly	Cys	His	Thr
			260					265					270		
Pro	Thr	Asp	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Leu	Leu	Leu	Arg	Thr	Pro
		275					280					285			
Tyr	Ser	Ser	Asp	Asn	Leu	Tyr	Gln	Met	Thr	Ser	Gln	Leu	Glu	Cys	Met
	290					295					300				
Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala
305					310					315					320
Gly	Ser	Ser	Ser	Ser	Val	Lys	Trp	Thr	Glu	Gly	Gln	Ser	Asn	His	Ser
					325				330					335	
Thr	Gly	Tyr	Glu	Ser	Asp	Asn	His	Thr	Thr	Pro	Ile	Leu	Cys	Gly	Ala
			340					345					350		
Gln	Tyr	Arg	Ile	His	Thr	His	Gly	Val	Phe	Arg	Gly	Ile	Gln	Asp	Val
		355					360					365			
Arg	Arg	Val	Pro	Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Leu	Val	Arg	Ser	Ala	Ser	Glu
	370					375					380				

Thr Ser Glu Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
385 390 395 400

Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His Thr
405 410 415

Gly Glu Lys Pro Tyr Gln Cys Asp Phe Lys Asp Cys Glu Arg Arg Phe
420 425 430

Ser Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg His Thr Gly Val
435 440 445

Lys Pro Phe Gln Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp
450 455 460

His Leu Lys Thr His Thr Arg Thr His Thr Gly Glu Lys Pro Phe Ser
465 470 475 480

Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser Asp Glu Leu
485 490 495

Val Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys Leu Gln Leu
500 505 510

Ala Leu

<210> 202

<211> 168

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 202

Met Gly His His His His His His His His His His Ser Ser Gly His
1 5 10 15

Ile Glu Gly Arg His Met Arg Arg Val Pro Gly Val Ala Pro Thr Leu
20 25 30

Val Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala
35 40 45

Tyr Pro Gly Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met
50 55 60

His Ser Arg Lys His Thr Gly Glu Lys Pro Tyr Gln Cys Asp Phe Lys
65 70 75 80

MD/EP 3377516 T2 2022.10.31

80

Asp Cys Glu Arg Arg Phe Phe Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln
85 90 95

Arg Arg His Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln Cys Lys Thr Cys Gln Arg
100 105 110

Lys Phe Ser Arg Ser Asp His Leu Lys Thr His Thr Arg Thr His Thr
115 120 125

Gly Glu Lys Pro Phe Ser Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe
130 135 140

Ala Arg Ser Asp Glu Leu Val Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn
145 150 155 160

Met Thr Lys Leu Gln Leu Ala Leu
165

<210> 203

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 203

Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala Gly Ser Ser Ser Ser Val Lys
1 5 10 15

Trp Thr

<210> 204

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 204

Leu Lys Gly Val Ala Ala Gly Ser Ser Ser Ser Val Lys Trp Thr
1 5 10 15

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- ? DAVID STATHER ET AL: "130: High PD-1 Levels at Baseline are Associated With Unfavourable Clinical Outcome in a Wilms Tumour Gene 1 (Wt1) Peptide Vaccination Setting in Leukaemia Patients", JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY; ABSTRACTS FOR THE 26TH ANNUAL SCIENTIFIC MEETING OF THE SOCIETY FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER (SITC), RAVEN PRESS, NEW YORK, NY, US; NORTH BETHESDA, MD, USA , vol. 34, no. 9 1 January 2011 (2011-01-01), page 704, XP009507550, ISSN: 1053-8550, DOI: 10.1097/CJI.0B013E318234180B Retrieved from the Internet: URL:https://sitc.sitcancer.org/UserFiles/f ile/SITC26thAMAbstractPosterBook-FINAL.pdf
- ? EP-A1- 3 299 028
- ? C RIETHER ET AL: "Blocking programmed cell death 1 in combination with adoptive cytotoxic T-cell transfer eradicates chronic myelogenous leukemia stem cells", LEUKEMIA., vol. 29, no. 8, 1 August 2015 (2015-08-01) , pages 1781-1785, XP055331159, US ISSN: 0887-6924, DOI: 10.1038/leu.2015.26
- ? WO-A1-2015/103602
- ? P. G. MASLAK ET AL: "Vaccination with synthetic analog peptides derived from WT1 oncoprotein induces T-cell responses in patients with complete remission from acute myeloid leukemia", BLOOD, vol. 116, no. 2, 16 April 2010 (2010-04-16), pages 171-179, XP055190150, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2009-10-250993
- ? WO-A2-2014/144885
- ? LEE M KRUG ET AL: "WT1 peptide vaccinations induce CD4 and CD8 T cell immune responses in patients with mesothelioma and non-small cell lung cancer", CANCER IMMUNOLOGY, IMMUNOTHERAPY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 59, no. 10, 8 June 2010 (2010-06-08), pages 1467-1479, XP019842215, ISSN: 1432-0851
- ? US-A1- 2010 111 986
- ? BERGER RAANAN ET AL: "Phase I safety and pharmacokinetic study of CT-011, a humanized antibody interacting with PD-1, in patients with advanced hematologic malignancies.", CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH 15 MAY 2008, vol. 14, no. 10, 15 May 2008 (2008-05-15), pages 3044-3051, ISSN: 1078-0432
- ? US-A1- 2015 258 186
- ? KEILHOLZ ULRICH ET AL: "A clinical and immunologic phase 2 trial of Wilms tumor gene product 1 (WT1) peptide vaccination in patients with AML and MDS", BLOOD, vol. 113, no. 26, 25 June 2009 (2009-06-25), pages 6541-6548, ISSN: 0006-4971(print)
- ? SCHNORFEIL FRAUKE M ET AL: "T cells are functionally not impaired in AML: increased PD-1 expression is only seen at time of relapse and correlates with a shift towards the memory T cell compartment.", JOURNAL OF HEMATOLOGY & ONCOLOGY 30 JUL 2015, vol. 8, 30 July 2015 (2015-07-30), page 93, ISSN: 1756-8722
- ? AGHAJANIAN CAROL ET AL: "OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer.", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY : OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY 10 JUN 2012, vol. 30, no. 17, 10 June 2012 (2012-06-10) , pages 2039-2045, ISSN: 1527-7755
- ? O'CEARBHAILL R E ET AL: "A phase I study of concomitant galinpepimuts (GPS) in combination with nivolumab (nivo) in patients (pts) with WT1+ ovarian cancer (OC) in second or third remission", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY 20180501 AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY NLD, vol. 36, no. 15, Supplement 1, 1 May 2018 (2018-05-01), ISSN: 1527-7755
- ? ICON AND AGO COLLABORATORS: "Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: The ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial.", LANCET (NORTH AMERICAN EDITION), vol. 361, no. 9375, 21 June 2003 (2003-06-21), pages 2099-2106, ISSN: 0099-5355
- ? HARRISON MICHELLE L ET AL: "Duration of second or greater complete clinical remission in ovarian cancer: Exploring potential endpoints for clinical trials", GYNECOLOGIC ONCOLOGY, vol. 106, no. 3, September 2007 (2007-09), pages 469-475, ISSN: 0090-8258(print)

- ? PUJADE-LAURINE ERIC ET AL: "Bevacizumab combined with chemotherapy for platinum-resistant recurrent ovarian cancer: The AURELIA open-label randomized phase III trial.", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY : OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY 01 MAY 2014, vol. 32, no. 13, 1 May 2014 (2014-05-01), pages 1302-1308, ISSN: 1527-7755
- ? DATABASE MEDLINE [Online] US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; 1 June 2020 (2020-06-01), ZAMARIN DMITRIY ET AL: "Randomized Phase II Trial of Nivolumab Versus Nivolumab and Ipilimumab for Recurrent or Persistent Ovarian Cancer: An NRG Oncology Study.", Database accession no. NLM32275468

(57) Revendicări:

1. Combinația de
 - (a) cele patru peptide WT1 YMFNPAPYL (SEQ ID NO:124), RSDDELVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) and SGQAYMFNPAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125) și
 - (b) cel puțin un inhibitor de anticorpi PD1,
 pentru utilizare în tratarea, reducerea incidenței sau inducerea unui răspuns imun împotriva unui cancer care exprimă WT1.
2. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care peptidele WT1 sunt administrate cu un purtător, excipient sau diluant, sau un adjuvant cum ar fi QS21, Montanide, adjuvantul Freund complet sau incomplet, fosfat de aluminiu, hidroxid de aluminiu, BCG, o citokină sau alaun.
3. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care inhibitorul PD1 este nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab sau MEDI0680 (AMP-514).
4. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care una sau mai multe dintre peptidele WT1 sunt administrate separat.
5. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care două sau mai multe dintre peptidele WT1 sunt administrate împreună în cadrul aceleiași formulări.
6. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care peptidele WT1 și inhibitorul PD1 sunt prezente în aceeași compoziție.
7. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care peptidele WT1 și inhibitorul PD1 sunt administrate concomitent, sau într-un program suprapus, sau în care ultima administrare a peptidelor WT1 precede prima administrare a inhibitorului PD1.
8. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care cancerul este cancer ovarian, mezoteliom, leucemie, tumoră Wilms, leucemie mielogenă acută (LMA), leucemie mieloidă cronică (LMC), sindrom mielodisplazic (SMD), melanom, cancer de stomac, cancer de prostată, cancer biliar, cancer al sistemului urinar, glioblastom, sarcom de țesut moale, osteosarcom sau cancer pulmonar fără celule mici (NSCLC).
9. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care una sau mai multe dintre peptidele NLMNLGATL (SEQ ID NO:21), WNLMLNLGATLKGVA (SEQ ID NO:26), LVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:3), NKRYFKLSHLQMHSR (SEQ ID NO:4), SGQARMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:5), QARMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:6), RMFPNAPYL (SEQ ID NO:7), SLGEQQYSV (SEQ ID NO:8), ALLPAVPSL (SEQ ID NO:9), NLGATLKG (SEQ ID NO:10), DLNALLPAV (SEQ ID NO:11), GVFRGIQDV (SEQ ID NO:12), KRYFKLSHL (SEQ ID NO:13), ALLLRTPYS (SEQ ID NO:14), CMTWMQMNL (SEQ ID NO:15), NMHQRNMTK (SEQ ID NO:16), QMNLGATL (SEQ ID NO:17), FMCAYPGCNK (SEQ ID NO:18), KLSHLQMHSR (SEQ ID NO:19), QAYMFNPAPYLPSCLES (SEQ ID NO:126), YLGEQQYSV (SEQ ID NO:127), YLLPAVPSL (SEQ ID NO:128), YLGATLKG (SEQ ID NO:129), YLNALLPAV (SEQ ID NO:130), GLRRGIQDV (SEQ ID NO:131), KLYFKLSHL (SEQ ID NO:132), ALLLRTPYV (SEQ ID NO:133), YMTWNQMNL (SEQ ID NO:134), NMYQRNMTK (SEQ ID NO:135), NMHQRVMTK (SEQ ID NO:136), NMYQRVMTK (SEQ ID NO: 137), QMYLGATL (SEQ ID NO:138), QMNLGVTLK (SEQ ID NO:139), QMYLGVT (SEQ ID NO: 140), FMYAYPGCNK (SEQ ID NO:141), FMCAYPFCNK (SEQ ID NO:142), FMYAYPFCNK (SEQ ID NO:143), KLYHLQMHSR (SEQ ID NO:144), KLSHLQMHSK (SEQ ID NO:145), KLYHLQMHSK (SEQ ID NO:146), NQMNLGATL (SEQ ID NO:20), NYMNLGATL (SEQ ID NO:22), CMTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:23), CMTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:24), WNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:25), MTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:27), TWNMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:28), MTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:30), TWNMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:31), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO:33), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:34),

CMTWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:35), WNQMNLGAT (SEQ ID NO:36), TWNQMNGLGA (SEQ ID NO:37), MTWNQMNLG (SEQ ID NO:38), CMTWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:39), WNLNMNLGAT (SEQ ID NO:40), MNLGATLKG (SEQ ID NO:41), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:43), GALRNPTAC (SEQ ID NO:46), GYL RNPTAC (SEQ ID NO:47), GALRNPTAL (SEQ ID NO:48), YALRNPTAC (SEQ ID NO:49), GLLRNPTAC (SEQ ID NO:50), RQRPHPGAL (SEQ ID NO:51), RYRPHPGAL (SEQ ID NO:52), YQRPHPGAL (SEQ ID NO:53), RLRPHPGAL (SEQ ID NO:54), RIRPHPGAL (SEQ ID NO:55), QFPNHSFKHEDPMGQ (SEQ ID NO:61), HSFKHEDPM (SEQ ID NO:63), HSFKHEDPY (SEQ ID NO:64), HSFKHEDPK (SEQ ID NO:65), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ ID NO:66), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:67), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:68), FMCAYPGCN (SEQ ID NO:69), FMCAYPGCY (SEQ ID NO:70), și FMCAYPGCK (SEQ ID NO:71) sunt de asemenea administrate.

10. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care 200 mcg din fiecare peptidă sunt emulsionate cu Montanide ISA 51 VG și administrate subcutanat în săptămânile 0, 2, 4, 6, 8 și 10.

11. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 10 în care 3 mg/kg de nivolumab este administrat intravenos în săptămânile 0, 2, 4, 6, 8, 10 și 12.

12. Combinația pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 în care tratarea, reducerea incidenței sau inducerea unui răspuns imun împotriva unui cancer care exprimă WT1 este mai mare decât se realizează prin administrarea peptidelor WT1 singure sau a cel puțin un inhibitor PD1 singur.

13. O compoziție care cuprinde cele patru peptide WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO:124), RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO:1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) și SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO:125) și cel puțin un inhibitor PD1.

14. Compoziția în conformitate cu revendicarea 13 în care inhibitorul PD1 este nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab sau MEDI0680 (AMP-514).