

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2017119009, 02.11.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
03.11.2014 US 62/074,594(43) Дата публикации заявки: 05.12.2018 Бюл. №
34(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 05.06.2017(86) Заявка РСТ:
US 2015/058674 (02.11.2015)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/073378 (12.05.2016)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Большая Спасская, д. 25,
строение 3, ООО "Юридическая фирма
Городисский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):

ДЖЕНЕНТЕК, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

**ЧУ Феликс (US),
ФОРЕМАН Одед (US),
ЗИАЙ Джеймс (US)**(54) **АНАЛИЗЫ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ИММУННЫХ Т-КЛЕТОК И СПОСОБЫ
ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(57) Формула изобретения

1. Способ определения прогноза у субъекта, имеющего рак, включающий:

(а) измерение количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце, содержащем
полученные от субъекта раковые клетки и лимфоциты; а также(b) определение прогноза у субъекта на основании количества CD4+ OX40+ Foxp3+
лимфоцитов в образце по сравнению с эталоном, при этом повышенное количество
CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце указывает на то, что субъект может иметь
более благоприятный прогноз.2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что более благоприятный прогноз включает
увеличение общей выживаемости.3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что более благоприятный прогноз
включает увеличение выживаемости без прогрессии.

4. Способ лечения или замедления прогрессирования рака у субъекта, включающий:

(а) измерение количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце, содержащем
полученные от субъекта раковые клетки и лимфоциты;(b) определение количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце по сравнению
с эталоном; а также

(с) введение субъекту эффективного количества агониста OX40 в случае, если

количество CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце является повышенным по сравнению с эталоном.

5. Способ лечения или замедления прогрессирования рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества агониста OX40, при этом образец, содержащий раковые клетки и лимфоциты, полученные от субъекта, характеризуется повышенным количеством CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов по сравнению с эталоном.

6. Способ прогнозирования ответа у субъекта, имеющего рак, на лечение агонистом OX40, включающий:

(а) измерение количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце, содержащем полученные от субъекта раковые клетки и лимфоциты; а также

(б) классификацию субъекта как отвечающего или не отвечающего на лечение на основании количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце по сравнению с эталоном, при этом повышенное количество CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце указывает на то, что субъект может отвечать на лечение агонистом OX40.

7. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что количество CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов является медианным, средним или усредненным количеством CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в различных представляющих интерес участках образца, полученных от субъекта.

8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что количество CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов нормализуют по отношению к общему количеству клеток в области образца, представляющей интерес.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что эталонное значение основано на количестве CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце, содержащем раковые клетки и лимфоциты, полученные из раковой опухоли, характеризующейся тем же типом и/или стадией, что и раковая опухоль у субъекта.

10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что эталонное значение представляет собой медианное, среднее или усредненное количество CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце, полученном из раковой опухоли, характеризующейся тем же типом и/или стадией, что и раковая опухоль у субъекта.

11. Способ по любому из пп. 4-6, отличающийся тем, что агонист OX40 представляет собой агонистическое антитело против OX40 человека.

12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело представляет собой моноклональное антитело.

13. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело представляет собой гуманизированное антитело или антитело человека.

14. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело содержит Fc-область IgG1.

15. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело содержит Fc-область IgG4.

16. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело включает Fc-область, содержащую мутацию, которая уменьшает связывание с Fc-рецептором.

17. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело включает (а) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2,8 или 9; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, 10, 11, 12, 13 или 14; (с) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 15 или 19; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (е) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28.

18. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело включает (а) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (с) HVR-H3,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

19. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело включает (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26.

20. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело включает (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

21. Способ по п. 11, отличающийся тем, что антитело представляет собой MEDI6469 или MEDI0562.

22. Способ по любому из пп. 4-6, отличающийся тем, что агонист OX40 содержит один или более внеклеточных доменов OX40L.

23. Способ по любому из пп. 4-6, отличающийся тем, что агонист OX40 представляет собой MEDI6383.

24. Способ по любому из пп. 1-23, отличающийся тем, что измерение количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце включает:

- (a) мечение лимфоцитов, которые демонстрируют экспрессию CD4 в образце;
- (b) мечение лимфоцитов, которые демонстрируют экспрессию OX40 в образце после этапа (a);
- (c) мечение лимфоцитов, которые демонстрируют экспрессию Foxp3 в образце после этапа (b);
- (d) измерение количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце после этапа (c).

25. Способ измерения количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце, содержащем полученные от субъекта раковые клетки и лимфоциты, состоящий из следующих этапов:

- (a) мечение лимфоцитов, которые демонстрируют экспрессию CD4 в образце;
- (b) мечение лимфоцитов, которые демонстрируют экспрессию OX40 в образце после этапа (a);
- (c) мечение лимфоцитов, которые демонстрируют экспрессию Foxp3 в образце после этапа (b);
- (d) измерение количества CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце после этапа (c).

26. Способ по п. 24 или 25, дополнительно включающий обработку образца раствором, содержащим ЭДТК или цитратный буфер, между этапами (a) и (b) и/или между этапами (b) и (c).

27. Способ по любому из пп. 24-26, отличающийся тем, что лимфоциты, демонстрирующие экспрессию CD4, экспрессию OX40 и экспрессию Foxp3, метят с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания.

28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что лимфоциты, демонстрирующие экспрессию OX40, метят с помощью антитела, содержащего (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (b) HVR-H2, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (с) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 26 или 27.

29. Способ по п. 27 или 28, отличающийся тем, что количественное определение CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце включает визуализацию указанного иммунофлуоресцентного окрашивания.

30. Способ по любому из пп. 1-29, отличающийся тем, что рак представляет собой колоректальный рак.

31. Способ по любому из пп. 1-29, отличающийся тем, что рак выбирают из группы, состоящей из немелкоклеточного рака легкого, почечно-клеточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака яичника, глиобластомы, нейробластомы, меланомы, карциномы молочной железы, рака желудка и гепатоцеллюлярной карциномы.

32. Способ по п. 31, отличающийся тем, что карцинома молочной железы представляет собой трижды негативную карциному молочной железы.

33. Способ по любому из пп. 1-32, отличающийся тем, что образец содержит раковые клетки и лимфоциты, причем указанные раковые клетки получают из первичной опухоли.

34. Способ по любому из пп. 1-32, отличающийся тем, что образец содержит раковые клетки и лимфоциты, причем указанные раковые клетки получают из метастаза.

35. Способ по любому из пп. 1-34, отличающийся тем, что CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоциты являются инфильтрирующими опухоль лимфоцитами.

36. Способ определения прогноза у субъекта, имеющего рак, включающий:

(а) измерение количества OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце, содержащем полученные от субъекта метастатические раковые клетки и лимфоциты; а также

(b) определение прогноза у субъекта на основании количества OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце по сравнению с эталоном, при этом повышенное количество OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце указывает на то, что субъект может иметь более благоприятный прогноз.

37. Способ по п. 36, отличающийся тем, что более благоприятный прогноз включает увеличение общей выживаемости.

38. Способ по п. 36 или 37, отличающийся тем, что более благоприятный прогноз включает увеличение периода выживаемости без прогрессии.

39. Способ лечения или замедления прогрессирования рака у субъекта, включающий:

(а) измерение количества OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце, содержащем полученные от субъекта метастатические раковые клетки и лимфоциты;

(b) определение количества OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце по сравнению с эталоном; а также

(с) введение субъекту эффективного количества агониста OX40 в случае, если количество OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце является повышенным по сравнению с эталоном.

40. Способ лечения или замедления прогрессирования рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества агониста OX40, при этом образец, содержащий метастатические раковые клетки и лимфоциты, полученные от субъекта, характеризуется повышенным количеством OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов по сравнению с эталоном.

41. Способ прогнозирования ответа у субъекта, имеющего рак, на лечение агонистом

OX40, включающий:

(а) измерение количества OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце, содержащем полученные от субъекта метастатические раковые клетки и лимфоциты; а также

(b) классификацию субъекта как отвечающего или не отвечающего на лечение на основании количества OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце по сравнению с эталоном, при этом повышенное количество OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце указывает на то, что субъект может отвечать на лечение агонистом OX40.

42. Способ по любому из пп. 36-41, отличающийся тем, что количество OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов является медианным, средним или усредненным количеством OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+, или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в различных представляющих интерес участках образца, полученного от субъекта.

43. Способ по п. 42, отличающийся тем, что количество OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов нормализуют по отношению к общему количеству клеток в определенной области образца.

44. Способ по любому из пп. 36-43, отличающийся тем, что эталонное значение основано на количестве OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоцитов в образце, содержащем метастатические раковые клетки и лимфоциты, полученные из раковой опухоли, характеризующейся тем же типом и/или стадией, что и раковая опухоль у субъекта.

45. Способ по п. 44, отличающийся тем, что эталонное значение представляет собой медианное, среднее или усредненное количество CD4+ OX40+ Foxp3+ лимфоцитов в образце, полученном из раковой опухоли, характеризующейся тем же типом и/или стадией, что и раковая опухоль у субъекта.

46. Способ по любому из пп. 39-41, отличающийся тем, что агонист OX40 представляет собой агонистическое антитело против OX40 человека.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело представляет собой моноклональное антитело.

48. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело представляет собой гуманизированное антитело или антитело человека.

49. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело содержит Fc-область IgG1.

50. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело содержит Fc-область IgG4.

51. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело включает Fc-область, содержащую мутацию, которая уменьшает связывание с Fc-рецептором.

52. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело включает (а) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2,8 или 9; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, 10, 11, 12, 13 или 14; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 15 или 19; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28.

53. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело включает (а) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

54. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело включает (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26.

55. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело включает (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; а также (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

56. Способ по п. 46, отличающийся тем, что антитело представляет собой MEDI6469 или MEDI0562.

57. Способ по любому из пп. 39-41, отличающийся тем, что агонист OX40 содержит один или более внеклеточных доменов OX40L.

58. Способ по любому из пп. 39-41, отличающийся тем, что агонист OX40 представляет собой MEDI6383.

59. Способ по любому из пп. 36-58, отличающийся тем, что рак представляет собой колоректальный рак.

60. Способ по любому из пп. 36-58, отличающийся тем, что рак выбирают из группы, состоящей из немелкоклеточного рака легкого, почечно-клеточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака яичника, глиобластомы, нейробластомы, меланомы, карциномы молочной железы, рака желудка и гепатоцеллюлярной карциномы.

61. Способ по п. 60, отличающийся тем, что карцинома молочной железы представляет собой трижды негативную карциному молочной железы.

62. Способ по любому из пп. 36-61, отличающийся тем, что OX40+, CD4+ OX40+ Foxp3+ или CD4+ OX40+ Foxp3- лимфоциты являются инфильтрирующими опухоль лимфоцитами.