

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 939 143**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/74 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.10.2019 PCT/JP2019/039012**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2020 WO20071457**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2019 E 19790312 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2022 EP 3861347**

54 Título: **Biomarcadores para una politerapia que comprende lenvatinib y everolimus**

30 Prioridad:

05.10.2018 US 201862741861 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

19.04.2023

73 Titular/es:

**EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (100.0%)
4-6-10 Koishikawa Bunkyo-ku
Tokyo 112-8088, JP**

72 Inventor/es:

**FUNAHASHI YASUHIRO;
MINOSHIMA YUKINORI;
KANEKIYO MICHIO;
MATSUKI MASAHIRO;
ADACHI YUSUKE y
KODAMA KOTARO**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 939 143 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Biomarcadores para una politerapia que comprende lenvatinib y everolimus

5 [Campo técnico]

La presente invención se refiere a la predicción de la respuesta de un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales a una politerapia que comprende lenvatinib y everolimus.

10

[Antecedentes de la técnica]

El carcinoma de células renales (RCC) es el tipo más común de cáncer de riñón en adultos y representa aproximadamente el 90 por ciento de los cánceres de riñón diagnosticados.

15

El mesilato de lenvatinib se ha aprobado como LENVIMA^(Marca registrada) por la U.S. Food and Drug Administration para el tratamiento de pacientes con cáncer de tiroides diferenciado refractario al yodo radioactivo, progresivo, localmente recurrente o metastásico, carcinoma hepatocelular irsecable, o en combinación con everolimus, para el tratamiento de pacientes con carcinoma de células renales avanzado.

20

La mayor parte de los tratamientos antitumorales están asociados con efectos secundarios indeseados, tales como náuseas profundas, vómitos o fatiga grave. Dichos efectos secundarios deben controlarse especialmente cuando se utilizan múltiples agentes antitumorales en forma de politerapia. Además, si bien los tratamientos antitumorales han tenido éxito, no producen respuestas clínicas significativas en todos los pacientes que los reciben, lo que tiene como consecuencia efectos secundarios indeseados, demoras y costes asociados con un tratamiento ineficaz. Por lo tanto, son muy necesarios biomarcadores que puedan utilizarse para predecir la respuesta de un sujeto a un agente antitumoral, especialmente cuando se utilice en una politerapia, antes de la administración del mismo. En el documento WO 2016/194348, por ejemplo, se describe un procedimiento para predecir la respuesta de un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, que comprende medir la nivel de expresión de angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra biológica de un paciente. En Glen et al. Eur J Cancer, vol. 51, suplemento 3, S89, 1 de septiembre de 2015, se describe la medición de niveles séricos de VEGF, FGF-23 y ANG-2 para identificar sujetos que responden a la politerapia con lenvatinib y everolimus.

25

30

35

[Sumario de la invención]

La presente invención se expone en el conjunto de reivindicaciones adjunto. Se basa, al menos en parte, en la identificación de biomarcadores que pueden utilizarse para identificar o seleccionar un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales que responda a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. El nivel de expresión de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en una muestra biológica obtenida del sujeto humano antes del tratamiento ("nivel basal") se identifica como un factor de predicción útil de que un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales responda a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Además, un biomarcador compuesto basado en el nivel de expresión de al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2 o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en una muestra biológica obtenida del sujeto humano antes del tratamiento ("nivel basal") se identifica como un factor de predicción útil de que un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales responda a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Además, un biomarcador compuesto basado en el nivel de expresión de al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2 en una muestra biológica obtenida del sujeto humano antes del tratamiento ("nivel basal") se identifica como un factor de predicción útil de que un humano sujeto que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales responda a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Por lo tanto, los biomarcadores que incluyen la puntuación de biomarcador compuesto y las composiciones descritas en el presente documento son útiles, por ejemplo, para identificar, estratificar y/o seleccionar un paciente o un subconjunto de pacientes con carcinoma de células renales que podría beneficiarse de una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Además, los procedimientos descritos en el presente documento son útiles, por ejemplo, en la selección de modalidades de tratamiento apropiadas (por ejemplo, politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus o una terapia alternativa para el carcinoma de células renales) para un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales. Cuando en la presente descripción se hace referencia a procedimientos de tratamiento, esto debe interpretarse como una referencia a los compuestos, las composiciones farmacéuticas o los medicamentos de la presente invención para su uso en los respectivos procedimientos de tratamiento.

40

45

50

55

60

65

En un aspecto, la divulgación proporciona un procedimiento para identificar a un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales que responda a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. El procedimiento implica analizar una muestra biológica obtenida del sujeto antes de la administración de la politerapia y determinar que el nivel de expresión de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en la muestra biológica es inferior, en comparación con un control. El sujeto que tiene un nivel de expresión bajo de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en la muestra biológica se identifica como un sujeto que responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. Alternativamente, el procedimiento implica analizar una muestra biológica obtenida del sujeto antes de la administración de la politerapia y determinar que la puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2 en la muestra biológica se encuentran dentro de un intervalo que indica que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control. El sujeto que tiene dicha puntuación de biomarcador compuesto en la muestra biológica se identifica como un sujeto que responde a la politerapia. En determinadas formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto se calcula basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-LCR, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en la muestra biológica. En algunas formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto se calcula basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2 en la muestra biológica. En algunas formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto se calcula basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en la muestra biológica. En otras formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto se calcula basándose en los niveles de expresión basales de al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2 en la muestra biológica.

En un segundo aspecto, la divulgación presenta un procedimiento de selección de un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales para la administración de una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. El procedimiento comprende analizar una muestra biológica obtenida del sujeto humano para determinar el nivel de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF. Si se determina que el nivel de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en la muestra biológica es inferior, en comparación con un control, el sujeto se selecciona para la administración de la politerapia. En determinadas formas de realización, el procedimiento comprende además administrar la politerapia al sujeto humano. Alternativamente, el procedimiento comprende analizar una muestra biológica obtenida del sujeto humano para determinar el nivel de expresión basal de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

en la muestra biológica. Si se determina que la puntuación de biomarcador compuesto se encuentra dentro de un intervalo que indica que el sujeto humano responde a la politerapia, en comparación con la puntuación del marcador compuesto de control, el sujeto se selecciona para la administración de la politerapia. En determinadas formas de realización, el procedimiento comprende además administrar la politerapia al sujeto humano. En determinadas formas de realización, el procedimiento comprende analizar la muestra biológica para determinar el nivel de expresión basal de al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en la muestra biológica. En algunas formas de realización, el procedimiento comprende analizar la muestra biológica para determinar el nivel de expresión basal de al menos cinco proteínas que comprenden HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2 en la muestra biológica. En algunas formas de realización, el procedimiento comprende analizar la muestra biológica para determinar el nivel de expresión basal de al menos cinco proteínas que comprenden TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en la muestra biológica. En otras formas de realización, el procedimiento comprende analizar la muestra biológica para determinar el nivel de expresión basal de al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2 en la muestra biológica.

En un tercer aspecto, la divulgación proporciona un procedimiento para tratar un carcinoma de células renales. El procedimiento implica proporcionar una muestra biológica obtenida de un sujeto humano que tiene carcinoma de células renales antes del tratamiento; medir, en la muestra biológica, un nivel de expresión de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF que sea inferior en comparación con un control; y administrar al sujeto humano una cantidad terapéuticamente eficaz de lenvatinib o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. Alternativamente, el procedimiento comprende proporcionar una muestra biológica obtenida de un sujeto humano que tiene carcinoma de células renales antes del tratamiento; medir una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

5 (A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

10 en la muestra biológica; y administrar al sujeto humano una cantidad terapéuticamente eficaz de lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en el que la puntuación de biomarcador compuesto indica que el sujeto humano responde a la politerapia en comparación con una puntuación del marcador compuesto de control. En determinadas formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto se calcula basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en la muestra biológica. En algunas formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto se calcula basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2 en la muestra biológica. En algunas formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto se calcula basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en la muestra biológica. En otras formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto se calcula basándose en los niveles de expresión basales de al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2 en la muestra biológica.

En un cuarto aspecto, la divulgación proporciona un procedimiento para tratar un carcinoma de células renales. El procedimiento consiste en administrar a un sujeto humano que tiene un carcinoma de células renales una cantidad terapéuticamente eficaz de una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en el que el sujeto humano se ha identificado como un sujeto que tiene un nivel de expresión de al menos una proteína seleccionado del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF que es inferior en comparación con un control, o una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

30 (A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

35 dentro de un intervalo que indica que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control. En determinadas formas de realización, el sujeto se ha identificado como un sujeto que tiene un nivel de expresión inferior de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en una muestra biológica obtenida del sujeto humano. En determinadas formas de realización, el sujeto se ha identificado como un sujeto que tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en una muestra biológica obtenida del sujeto humano, indicando la puntuación compuesta del biomarcador dentro de un intervalo que el sujeto humano responde a la politerapia en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control. En algunas formas de realización, el sujeto se ha identificado como un sujeto que tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2 en una muestra biológica obtenida de la sujeto humano, indicando la puntuación de biomarcador compuesto dentro de un intervalo que el sujeto humano responde a la politerapia en comparación con una puntuación del marcador compuesto de control.

En algunas formas de realización, el sujeto se ha identificado como un sujeto que tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A en una muestra biológica obtenida del sujeto humano, indicando la puntuación de biomarcador compuesto dentro de un intervalo que el sujeto humano responde a la politerapia en comparación con una puntuación del marcador compuesto de control. En algunas formas de realización, el sujeto se ha identificado como un sujeto que tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2 en una muestra biológica obtenida del sujeto humano, indicando la puntuación de biomarcador compuesto dentro de un intervalo que el sujeto humano responde a la politerapia en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control.

En un quinto aspecto, la divulgación presenta un procedimiento para tratar a un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales. El procedimiento implica administrar al sujeto humano una politerapia que comprende everolimus y lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el sujeto humano tiene un nivel de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en una muestra biológica obtenida del sujeto que es inferior a un

control, o el sujeto humano tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

dentro de un intervalo que indica que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control. En determinadas formas de realización, el procedimiento implica administrar al sujeto humano una politerapia que comprende everolimus y lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el sujeto humano tiene un nivel de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en una muestra biológica obtenida del sujeto que es inferior a un control. En algunas formas de realización, el procedimiento implica administrar al sujeto humano una politerapia que comprende everolimus y lenvatinib o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el sujeto humano tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A dentro de un intervalo que indica que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control. En algunas formas de realización, el procedimiento implica administrar al sujeto humano una politerapia que comprende everolimus y lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el sujeto humano tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2 dentro de un intervalo que indica que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control. En algunas formas de realización, el procedimiento implica administrar al sujeto humano una politerapia que comprende everolimus y lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el sujeto humano tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas que comprenden TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A dentro de un intervalo que indica que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control. En otras formas de realización, el procedimiento implica administrar al sujeto humano una politerapia que comprende everolimus y lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el sujeto humano tiene una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2 dentro de un intervalo que indica que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control.

La puntuación de biomarcador compuesto descrita anteriormente se puede calcular mediante las etapas siguientes:

medir los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

en la muestra biológica;

determinar una puntuación para cada proteína basándose en su nivel de expresión basal; y

sumar las puntuaciones para obtener una puntuación de biomarcador compuesto.

En una forma de realización, se puede asignar un valor mayor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con mejores resultados terapéuticos en respuesta a la politerapia, siendo una puntuación de biomarcador compuesto igual o superior a la puntuación de biomarcador compuesto de control predictiva de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. En una forma de realización, se puede asignar un valor menor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con mejores resultados terapéuticos en respuesta a la politerapia, siendo una puntuación de biomarcador compuesto igual o inferior a la puntuación de biomarcador compuesto de control predictiva de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus.

En una forma de realización, la puntuación para cada proteína es un valor binario basado en el nivel de expresión

basal para cada una de las proteínas. En una forma de realización, el valor binario es 0 o 1.

En una forma de realización, el intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con mejores resultados terapéuticos se determina comparando el nivel de expresión basal con un nivel de expresión de control para cada una de las proteínas.

En una forma de realización, las al menos cinco proteínas comprenden HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2. En otra forma de realización, las al menos cinco proteínas comprenden TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A. En otra forma de realización más, las al menos cinco proteínas consisten en HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2. En otra forma de realización más, las al menos cinco proteínas consisten en TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A.

En una forma de realización, las al menos dos proteínas comprenden IL-18BP y ANG-2. En otra forma de realización, las al menos dos proteínas consisten en IL-18BP y ANG-2.

Las siguientes formas de realización están previstas para todos los aspectos anteriores.

En una forma de realización, el lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es mesilato de lenvatinib.

En una forma de realización, el carcinoma de células renales es un carcinoma de células renales avanzado o un carcinoma de células renales metastásico.

En algunas formas de realización, la muestra biológica se selecciona del grupo que consiste en una muestra de sangre, una muestra de suero, una muestra de plasma, una muestra de tumor archivada de carcinoma de células renales y una muestra de biopsia de carcinoma de células renales.

En algunas formas de realización, el control o el nivel de expresión de control es un valor de corte preestablecido. En una forma de realización, el valor de corte preestablecido es un nivel de expresión de una proteína que se determina basándose en el análisis de características operativas del receptor (ROC) o análisis de percentiles que predicen la respuesta tumoral con un valor predictivo positivo más elevado en comparación con ningún corte y en el que un nivel de expresión de una proteína igual o superior al valor de corte preestablecido es un nivel de expresión alto y un valor inferior al valor de corte preestablecido es un nivel de expresión bajo. La respuesta tumoral es una tasa de respuesta objetiva (ORR), una tasa de beneficio clínico (CBR) o un % de reducción máxima del tumor. En otra forma de realización, el valor de corte preestablecido es un nivel de expresión de una proteína que se determina basándose en modelos de simulación o análisis de percentiles que predicen la supervivencia, y en el que un nivel de expresión de una proteína igual o superior al valor de corte preestablecido es un nivel de expresión alto de una proteína y un valor inferior al valor de corte preestablecido es un nivel de expresión bajo de una proteína. En este contexto, la supervivencia es supervivencia libre de progresión (PFS) o supervivencia general (OS). En algunas formas de realización, ORR, CBR o PFS y OS se definen por los criterios de respuesta RECIST 1.1, establecidos por Eisenhauer, E. A. et al., Eur. J. Cancer 45:228-247 (2009).

En algunas formas de realización, la puntuación de biomarcador compuesto de control es un valor de corte preestablecido. En una forma de realización, el valor de corte preestablecido es una puntuación de biomarcador compuesto en el que se determina una puntuación para cada proteína basándose en el análisis ROC o el análisis de percentiles que predicen la respuesta tumoral con un valor predictivo positivo más elevado en comparación con ningún corte, y en el que una puntuación de biomarcador compuesto igual o superior al valor de corte preestablecido es una puntuación de biomarcador compuesto alta y una puntuación de biomarcador compuesto inferior al valor de corte preestablecido es una puntuación de biomarcador compuesto baja. La respuesta tumoral es una ORR, una CBR o un % de reducción máxima del tumor. En otra forma de realización, el valor de corte preestablecido es una puntuación de biomarcador compuesto que se determina basándose en modelos de simulación o análisis de percentiles que predicen la supervivencia, y en el que una puntuación de biomarcador compuesto igual o superior al valor de corte preestablecido es una puntuación de biomarcador compuesto alta y una puntuación de biomarcador compuesto inferior al valor de corte preestablecido es una puntuación de biomarcador compuesto baja. En este contexto, la supervivencia es PFS o OS.

En algunas formas de realización, el procedimiento incluye además comunicar los resultados del ensayo al profesional de la salud que atiende al sujeto. En determinadas formas de realización, el procedimiento incluye además modificar el registro médico del sujeto para indicar que el sujeto responde o no a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. En formas de realización específicas, el registro se crea en un medio legible informáticamente. En determinadas formas de realización, el procedimiento incluye además la prescripción de una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus para el sujeto si el perfil de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF o la puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

es predictivo de que el sujeto responde a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, el procedimiento incluye además administrar al sujeto una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus si el perfil de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF o la puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

es predictivo de que el sujeto responde a una terapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus.

En una forma de realización, el nivel de expresión de una proteína se determina midiendo la cantidad de la proteína. En una forma de realización, la cantidad de proteína puede medirse mediante un procedimiento inmunológico. En algunas formas de realización, el procedimiento inmunológico se selecciona del grupo que consiste en inmunoensayo enzimático, radioinmunoensayo, inmunoensayo quimioluminiscente, inmunoensayo electroquimioluminiscente, inmunoensayo turbidimétrico de látex, inmunoensayo fotométrico de látex, ensayo inmunocromatográfico e inmunotransferencia Western. En otra forma de realización, la cantidad de la proteína se mide mediante inmunoensayo enzimático.

En un sexto aspecto, la presente divulgación proporciona lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso concomitante con everolimus en el tratamiento de un carcinoma de células renales en un sujeto humano, en el que el sujeto humano se identifica mediante los procedimientos descritos anteriormente como un sujeto que responde a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus.

En algunas formas de realización, la sal farmacéuticamente aceptable de lenvatinib es mesilato de lenvatinib. En una forma de realización, el carcinoma de células renales es un carcinoma de células renales avanzado o metastásico.

En un séptimo aspecto, la divulgación proporciona un agente de detección de proteínas para su uso en la predicción de que un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales responde a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. En una forma de realización, el agente de detección de proteínas es un anticuerpo que se une a la proteína. En algunas formas de realización, la sal farmacéuticamente aceptable de lenvatinib es mesilato de lenvatinib.

En un octavo aspecto, la divulgación presenta un kit que comprende un agente de detección de proteínas para su uso en la predicción de que un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales responde a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. En determinadas formas de realización, el agente de detección de proteínas es un anticuerpo que se une a la proteína. En determinadas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En otras formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo policlonal. En determinadas formas de realización, el anticuerpo se conjuga con un agente detectable. En una forma de realización, el agente detectable es peroxidasa de rábano picante, biotina, un resto fluorescente, un resto radiactivo, una etiqueta de histidina o una etiqueta peptídica. En una forma de realización, el anticuerpo marcado de forma detectable se usa como recubrimiento de una microplaca. En determinadas formas de realización, la microplaca es una microplaca de 96 pocillos. En determinadas formas de realización, el kit incluye opcionalmente uno o más patrones de concentración, uno o más tampones (por ejemplo, tampones de lavado), uno o más diluyentes (por ejemplo, diluyentes de ensayo y/o calibración) y uno o más reactivos que facilitan la detección de si el agente de detección de proteínas se une específicamente a la proteína en una muestra biológica obtenida del sujeto (por ejemplo, reactivos de color, soluciones de parada). En algunas formas de realización, la sal farmacéuticamente aceptable de lenvatinib es mesilato de lenvatinib.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque se pueden utilizar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la puesta en práctica o el ensayo de la presente invención, a continuación se describen ejemplos de procedimientos y materiales. En caso de conflicto, prevalecerá la presente solicitud, incluidas las definiciones.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción detallada siguiente y de las reivindicaciones.

[Breve descripción de los dibujos]

[Figura 1] La figura 1 son gráficos de Kaplan Meier (K-M) de PFS por categoría CBS (0-2 frente a 3-5) en las ramas LEN/EVE y EVE en el análisis CBS (5 biomarcadores).

5 [Figura 2] La figura 2 son gráficos K-M de OS por categoría CBS (0-2 frente a 3-5) en las ramas LEN/EVE y EVE en el análisis CBS (5 biomarcadores).

[Figura 3] La figura 3 son gráficos K-M de PFS por categoría CBS (0 frente a 1-2) en las ramas LEN/EVE y EVE en el análisis CBS (2 biomarcadores).

10 [Figura 4] La figura 4 son gráficos K-M de OS por categoría CBS (0 frente a 1-2) en las ramas LEN/EVE y EVE en el análisis CBS (2 biomarcadores).

[Descripción de las formas de realización]

15 La presente divulgación proporciona procedimientos y composiciones para identificar a un sujeto con carcinoma de células renales (tal como un paciente humano) que responde a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. La divulgación proporciona un nivel de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF, o una puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

25 (B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

como biomarcador predictivo para identificar a aquellos sujetos que tienen, se sospecha que tienen o están en riesgo de desarrollar carcinoma de células renales (por ejemplo, carcinoma de células renales avanzado o metastásico) a los que se recomienda administrar una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Los biomarcadores que incluyen la puntuación de biomarcador compuesto, las composiciones y los procedimientos descritos en el presente documento son útiles para seleccionar modalidades terapéuticas apropiadas (por ejemplo, politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus o una terapia alternativa para el carcinoma de células renales) para sujetos que tienen, se sospecha que tienen o se encuentran en riesgo de desarrollar carcinoma de células renales. Además, la presente solicitud proporciona procedimientos para seleccionar pacientes que tienen, se sospecha que tienen o se encuentran en riesgo de desarrollar carcinoma de células renales que podrían beneficiarse de una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus, así como procedimientos de tratamiento.

Definiciones

El término "sujeto" significa un mamífero, incluidos, pero sin limitación, un ser humano, un chimpancé, un orangután, un gorila, un babuino, un mono, un ratón, una rata, un cerdo, un caballo, un perro y una vaca.

El término "politerapia" significa una terapia con la que se administran de forma concomitante dos o más fármacos a un paciente. Los dos o más fármacos pueden administrarse simultáneamente, de forma sustancialmente simultánea o secuencialmente. En algunos casos, los dos o más fármacos pueden formularse conjuntamente (por ejemplo, en un solo comprimido o cápsula). En otros casos, los dos o más fármacos no se formulan conjuntamente (por ejemplo, se administran como comprimidos o cápsulas separadas).

El término "lenvatinib" se refiere a 4-(3-cloro-4-(ciclopropilaminocarbonil)aminofenoxi)-7-metoxi-6-quinolincarb-oxamida. Este compuesto se divulga en el ejemplo 368 (véase, columna 270) de la patente de Estados Unidos N° 7.253.286. La expresión "compuesto de lenvatinib" se refiere a "lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo". Un ejemplo de una sal farmacéuticamente aceptable de lenvatinib es el mesilato de lenvatinib. El mesilato de lenvatinib también se conoce como E7080. El mesilato de lenvatinib se ha aprobado como LENVIMA^(Marca registrada) por la U.S. Food and Drug Administration para el tratamiento de pacientes con cáncer de tiroides diferenciado refractario al yodo radioactivo, progresivo, localmente recurrente o metastásico, carcinoma de tiroides irsecable, o en combinación con everolimus para el tratamiento de pacientes con carcinoma de células renales avanzado.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" no está particularmente restringido en cuanto al tipo de sal. Los ejemplos de tales sales incluyen, pero sin limitación, sal de adición de ácido inorgánico tal como sal de ácido clorhídrico, sal de ácido sulfúrico, sal de ácido carbónico, sal de bicarbonato, sal de ácido bromhídrico y sal de ácido yodhídrico; sal de adición de ácido carboxílico orgánico tal como sal de ácido acético, sal de ácido maleico, sal de ácido láctico, sal de ácido tartárico y sal de ácido trifluoroacético; sal de adición de ácido sulfónico orgánico tal como sal de ácido metanosulfónico, sal de ácido hidroximetanosulfónico, sal de ácido hidroxietanosulfónico, sal de ácido

bencenosulfónico, sal de ácido toluenosulfónico y sal de taurina; sal de adición de amina tal como sal de trimetilamina, sal de trietilamina, sal de piridina, sal de procaína, sal de picolina, sal de diciclohexilamina, sal de N,N'-dibenciletilendiamina, sal de N-metilglucamina, sal de dietanolamina, sal de trietanolamina, sal de tris(hidroximetilamino)metano y sal de fenetilbencilamina; y sal de adición de aminoácido tal como sal de arginina, sal de lisina, sal de serina, sal de glicina, sal de ácido aspártico y sal de ácido glutámico. En una forma de realización, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de ácido metanosulfónico ("mesilato"). La forma de sal de ácido metanosulfónico (es decir, el mesilato) de 4-(3-cloro-4-(ciclopropilaminocarbonil)aminofenoxi)-7-metoxi-6-quinolincarb-oxamida se describe en la patente de Estados Unidos N° 7.612.208.

El término "everolimus" se refiere a (1*R*,9*S*,12*S*,15*R*,16*E*,18*R*,19*R*,21*R*,23*S*,24*E*,26*E*,28*E*,30*S*,32*S*,35*R*)-1,18-dihidroxi-12-[(1*R*)-2-[(1*S*,3*R*,4*R*)-4-(2-hidroxietoxi)-3-metoxiciclohexil]-1-metiletil]-19,30-dimetoxi-15,17,21,23,29,35-hexametil-11,36-dioxa-4-aza-triciclo[30.3.1.0^{4,9}]hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-2,3,10,14,20-pentaona. Este compuesto se describe en la patente de Estados Unidos N° 5.665.772. El everolimus se ha aprobado como AFINITOR^(Marca registrada) por la U.S. Food and Drug Administration para el tratamiento de diversas enfermedades, incluido el carcinoma de células renales avanzado después de fracasar el tratamiento con sunitinib o sorafenib.

El término "proteína" significa cualquier cadena de aminoácidos unida con enlaces peptídicos, independientemente de su longitud o modificación postraduccional. Normalmente, una proteína descrita en el presente documento está "aislada" cuando constituye al menos el 60%, en peso, de la proteína total en una preparación, por ejemplo, el 60% de la proteína total en una muestra. En algunas formas de realización, una proteína descrita en el presente documento consiste en al menos el 75%, al menos el 90% o al menos el 99% en peso de la proteína total en una preparación.

La expresión "terapia dirigida a VEGF" significa cualquier terapia que comprenda la administración de un agente antitumoral que actúa sobre el o los receptores del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Los ejemplos de agentes antitumorales utilizados para la terapia dirigida a VEGF son: sunitinib, sorafenib, pazopanib, bevacizumab, axitinib, vatalanib y tivozanib.

La expresión "responde/que responde a una terapia" significa que el sujeto al que se le ha administrado la terapia muestra una respuesta positiva a la terapia proporcionada.

Ejemplos de dicha respuesta positiva son: una disminución en el tamaño del tumor, una disminución en la metástasis de un tumor o un mayor periodo de supervivencia después del tratamiento. Para un sujeto que se ha predicho que responde a una politerapia, la politerapia es recomendable como tratamiento preferido. Ejemplos de situaciones en las que se recomienda una politerapia como tratamiento preferido son: se predice que una politerapia que comprende dos fármacos específicos es más eficaz que otra u otras politerapias que comprenden dos fármacos de los que al menos uno es diferente de dichos dos fármacos específicos; se predice que una politerapia que comprende dos fármacos específicos es más eficaz que una monoterapia con uno o cada uno de dichos dos fármacos. En una forma de realización, la situación es en la que se predice que una politerapia con lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus es más eficaz que una monoterapia con everolimus, ambas aprobadas por la U.S. Food and Drug Administration como terapia para el carcinoma de células renales avanzado.

La expresión "nivel basal" de una proteína en una muestra de un sujeto significa la cantidad de esa proteína en la muestra antes de la administración al sujeto de una politerapia con everolimus y lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La expresión "análisis de un solo biomarcador" significa un análisis en el que se realiza una determinación para la identificación, predicción o selección de la capacidad de respuesta del paciente a un tratamiento mediante un nivel de expresión de un solo biomarcador. Cuando se analiza más de un biomarcador, la determinación se realiza para cada proteína. Más específicamente, el análisis de un solo biomarcador de la presente descripción es un análisis que utiliza al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en una muestra biológica para identificar o predecir si un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales responde a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus divulgada en el presente documento.

La expresión "análisis de puntuación de biomarcador compuesto" significa un análisis en el que se realiza una determinación para la identificación, predicción o selección de la capacidad de respuesta del paciente a un tratamiento mediante una evaluación integrada de los niveles de expresión de múltiples proteínas. Las proteínas utilizadas en el análisis de puntuación de biomarcador compuesto se pueden seleccionar de proteínas que están asociadas con el resultado terapéutico deseado. Más específicamente, el análisis de puntuación de biomarcador compuesto en la presente descripción es un análisis que utiliza la puntuación de marcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

para identificar o predecir si un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales responde a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus divulgada en el presente documento. La puntuación de biomarcador compuesto se puede calcular mediante las etapas siguientes:

medir o haber medido los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

en la muestra biológica;

determinar o haber determinado una puntuación para cada proteína basándose en su nivel de expresión basal; y

sumar o haber sumado las puntuaciones para obtener una puntuación de biomarcador compuesto.

Un médico puede realizar la medición de los niveles de expresión basales, la determinación de la puntuación o el cálculo de la puntuación de biomarcador compuesto por sí mismo, o puede hacer que lo hagan otros médicos o profesionales de la salud.

En una forma de realización, se puede asignar una puntuación más alta a cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico. En dicho caso, una puntuación de biomarcador compuesto igual o superior a una puntuación de biomarcador compuesto de control es predictiva de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus. En otra forma de realización, se puede asignar una puntuación más baja a cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico. En dicho caso, una puntuación de biomarcador compuesto igual o inferior a una puntuación de biomarcador compuesto de control es predictiva de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y everolimus.

La puntuación basada en su nivel de expresión basal en cada una de las proteínas puede ser un valor binario. El valor binario puede ser cualquier valor. El valor binario se puede seleccionar de entre cero y números positivos. El valor binario también se puede seleccionar de entre cero y números enteros positivos. Un ejemplo del valor binario es 0 o 1. El intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico se puede determinar comparando el nivel de expresión basal con un nivel de expresión de control para cada una de las proteínas. Para HGF, MIG, IL-18BP, IL-18, ANG-2, TIMP-1, M-CSF y VEGF-A, el intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico puede ser el intervalo de valores que es inferior al nivel de expresión de control para cada proteína. Las proteínas utilizadas en el análisis de puntuación de biomarcador compuesto se seleccionan de entre proteínas que tienen asociaciones (por ejemplo, asociaciones o correlaciones fuertes) con el resultado terapéutico deseado. Las proteínas que tienen asociaciones con el resultado terapéutico deseado pueden determinarse mediante procedimientos estadísticos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede realizar un análisis dicotomizado con mediana de punto de corte utilizando un análisis de regresión de Cox univariable y una prueba de rango logarítmico para identificar biomarcadores experimentales que tengan asociaciones con el resultado terapéutico deseado y se pueden seleccionar varios biomarcadores experimentales con una asociación más fuerte para el análisis de puntuación de biomarcador compuesto. Las "al menos cinco proteínas" pueden ser más de cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2 o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o cinco proteínas de (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2 o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A. Las "al menos dos proteínas" pueden ser más de dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2, o dos proteínas de IL-18BP y ANG-2. Un procedimiento de análisis de puntuación de biomarcador compuesto se describe por Voss et al., Br J Cancer, 15 de marzo de 2016; 114 (6): 642-9.

Un nivel de expresión basal bajo (por ejemplo, expresión de proteína o ARNm) en comparación con un control de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF es indicativo/predictivo de que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Por ejemplo, niveles bajos de expresión basal (en comparación con un control) de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en una muestra biológica obtenida de un sujeto antes del tratamiento con la terapia son predictivos de que el sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus.

Una puntuación de marcador compuesto alta calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

5 (B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

en comparación con una puntuación de biomarcador compuesto de control, es indicativa/predictiva de que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus, cuando se asigna un valor mayor como puntuación para cada valor de proteína si el nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico. Por ejemplo, una puntuación de marcador compuesto alta calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

15 (A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

20 en una muestra biológica obtenida de un sujeto antes del tratamiento con la terapia, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control, es predictiva de que el sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus.

Una puntuación de marcador compuesto baja calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

25 (A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

30 en comparación con una puntuación de biomarcador compuesto de control, es indicativa/predictiva de que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus, cuando se asigna un valor menor como puntuación para cada valor de proteína si el nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico. Por ejemplo, una puntuación de marcador compuesto baja calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

40 (B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

en una muestra biológica obtenida de un sujeto antes del tratamiento con la terapia, en comparación con una puntuación de marcador compuesto de control, es predictiva de que el sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus.

45 En determinadas formas de realización, se determina que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus si el sujeto muestra una respuesta parcial tras el tratamiento con la terapia. "Respuesta parcial" significa una disminución de al menos el 30% en la suma del diámetro más largo (LD) de las lesiones diana, tomando como referencia el LD sumado basal. En algunas formas de realización, se determina que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus si el sujeto muestra una reducción del tamaño del tumor después del tratamiento con la terapia. "% de reducción máxima del tumor" (MTS) significa el cambio porcentual de la suma de los diámetros de las lesiones diana, tomando como referencia la suma de los diámetros basales. En otras formas de realización, se determina que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus si el sujeto muestra supervivencia general. "Supervivencia general" (OS) se refiere al tiempo desde la aleatorización hasta la muerte por cualquier causa. "Aleatorización" significa la aleatorización de un paciente en un grupo de ensayo o un grupo de control cuando se determina el plan de terapia para un paciente. En algunas formas de realización, se determina que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus si el sujeto muestra supervivencia general y reducción del tumor. En otras formas de realización, se determina que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus si el sujeto muestra supervivencia libre de progresión. "Supervivencia libre de progresión" (PFS) se refiere al tiempo desde la fecha de aleatorización hasta la fecha de la primera documentación de progresión de la enfermedad o muerte, lo que suceda en primer lugar. En algunas formas de realización, se determina que un sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus si el sujeto muestra supervivencia libre de progresión y reducción del tumor.

La presente divulgación proporciona procedimientos para identificar a un sujeto que tiene carcinoma de células renales

que es más probable que tenga beneficios de supervivencia (por ejemplo, OS) tras una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus que tras una monoterapia que comprende solo everolimus. En este procedimiento, se analiza una muestra biológica del sujeto, obtenida antes del tratamiento con la politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus, y se mide el nivel de expresión de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF, o se miden los niveles de expresión de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2. Una expresión basal más baja de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en comparación con un control indica que es más probable que el sujeto tenga beneficios de supervivencia (por ejemplo, OS) tras una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus que tras una monoterapia que comprende solo everolimus. Una puntuación de marcador compuesto más alta calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

en comparación con una puntuación de biomarcador compuesto de control indica que es más probable que el sujeto tenga beneficios de supervivencia tras una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus que tras una monoterapia que comprende solo everolimus, en caso de que se asigne un valor mayor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores. Una puntuación de marcador compuesto más baja calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

en comparación con una puntuación de biomarcador compuesto de control indica que es más probable que el sujeto tenga beneficios de supervivencia (por ejemplo, OS) tras una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus que tras una monoterapia que comprende solo everolimus, en el caso de que se asigne un valor menor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores.

En determinadas formas de realización, se puede administrar un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) a un sujeto de la presente invención por vía oral una vez al día a una dosis de 12, 18 o 24 mg (en cada caso calculada como base libre de lenvatinib).

En determinadas formas de realización, se puede administrar everolimus a un sujeto de la presente invención por vía oral una vez al día a una dosis de 5 o 10 mg.

En determinadas formas de realización, se puede administrar un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) a un sujeto de la presente invención a una dosis de 18 mg por vía oral una vez al día con 5 mg de everolimus por vía oral una vez al día. En determinadas formas de realización, se puede administrar un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) a un sujeto de la presente invención a una dosis de 12 mg por vía oral una vez al día con 5 mg de everolimus por vía oral una vez al día. En determinadas formas de realización, se puede administrar un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) a un sujeto de la presente invención a una dosis de 18 mg por vía oral una vez al día con 10 mg de everolimus por vía oral una vez al día. En determinadas formas de realización, se puede administrar un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) a un sujeto de la presente invención a una dosis de 12 mg por vía oral una vez al día con 10 mg de everolimus por vía oral una vez al día. En determinadas formas de realización, se puede administrar un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) a un sujeto de la presente invención a una dosis de 24 mg por vía oral una vez al día con 10 mg de everolimus por vía oral una vez al día.

La cantidad de una proteína se puede medir utilizando cualquier procedimiento conocido en la técnica, tal como un ensayo inmunológico. Los ejemplos de dichos procedimientos incluyen inmunoensayo enzimático, radioinmunoensayo, inmunoensayo quimioluminiscente, inmunoensayo electroquimioluminiscente, inmunoensayo turbidimétrico de látex, inmunoensayo fotométrico de látex, ensayo inmunocromatográfico e inmunotransferencia Western. En determinadas formas de realización, la cantidad de una proteína se mide mediante inmunoensayo enzimático.

Controles

Tal como se ha descrito anteriormente, los procedimientos de la presente invención pueden implicar medir o haber medido un nivel de expresión basal de una proteína en una muestra biológica de un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar carcinoma de células renales, en los que el nivel de expresión de la proteína, en comparación con un control, predice que el sujeto responde a (o se beneficia de) un politratamiento que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus o los niveles de expresión de las proteínas, en comparación con un control, se usan para calcular una puntuación de marcador compuesto. En determinadas formas de realización, cuando un nivel de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF en una muestra biológica de un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar carcinoma de células renales es inferior al control, el sujeto se identifica como un sujeto que responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus. En determinadas formas de realización usando un análisis de puntuación de biomarcador compuesto, cuando un nivel de expresión basal para cada proteína de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

se encuentra dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con mejor resultado terapéutico, en comparación con el control, se le asigna una puntuación determinado. En una forma de realización, se puede asignar un valor mayor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico. En otra forma de realización, se puede asignar un valor menor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico.

En este contexto, el término "control" incluye una muestra (por ejemplo, del mismo tejido) obtenida de un sujeto que no responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Dicho sujeto que no responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus puede incluir un sujeto que se predice que responde a la politerapia, pero dicha respuesta a la politerapia no es significativamente mejor que una respuesta prevista a una monoterapia con everolimus. El término "control" también incluye una muestra (por ejemplo, del mismo tejido) obtenida en el pasado de un sujeto que se sabe que no responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus y que se utiliza como referencia para futuras comparaciones con muestras de ensayo tomadas de sujetos para los que se va a predecir la necesidad de la politerapia.

En algunas formas de realización, se puede usar un "control positivo" en lugar de un "control". El nivel de expresión del "control positivo" en un tipo de célula o tejido en particular puede preestablecerse alternativamente mediante un análisis de uno o más sujetos que se han identificado como sujetos que responden a una politerapia que comprende el compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Este valor de referencia preestablecido (que puede ser un nivel de expresión promedio o la mediana de un nivel de expresión tomado de múltiples sujetos que se han identificado como sujetos que responden a una politerapia) puede usarse como el nivel de expresión de "control positivo" en la comparación con la muestra de ensayo. En dicha comparación, se predice que el sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus si el nivel de expresión de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF que se analiza es igual o comparable a la referencia de control positivo preestablecida. En una forma de realización que aplica un análisis de puntuación de biomarcador compuesto, si un nivel de expresión basal de cada biomarcador de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

es igual o comparable a la referencia de control positivo preestablecida, se asigna una determinada puntuación cuando el nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico. En algunas formas de realización, se puede asignar un valor mayor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico. En otras formas de realización, se puede asignar un valor menor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico.

En determinadas formas de realización, el "control" es un valor de corte predeterminado.

Puntuación de biomarcador de control

5 Tal como se ha descrito anteriormente, los procedimientos de la presente invención que utilizan un análisis de puntuación de biomarcador compuesto pueden implicar la determinación de una puntuación de biomarcador compuesto sumando las puntuaciones, cada una de las cuales se determina basándose en los niveles de expresión basales de:

10 (A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

15 en una muestra biológica de un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar carcinoma de células renales, en los que la puntuación de biomarcador compuesto, en comparación con una puntuación de biomarcador compuesto de control, predice que el sujeto responde a (o se beneficia de) un
20 politratamiento que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. En determinadas formas de realización, cuando se asigna un valor mayor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico y una puntuación de biomarcador compuesto es igual o superior al control, el sujeto se identifica como un sujeto que responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus. En determinadas formas de realización, cuando se asigna un valor menor como puntuación para cada proteína si un nivel de expresión basal se encuentra dentro del intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico y una puntuación de biomarcador
25 compuesto es igual o inferior al control, el sujeto se identifica como un sujeto que responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus. En este contexto, la expresión "puntuación de biomarcador compuesto de control" incluye una puntuación de biomarcador compuesto de una muestra (por ejemplo, del mismo tejido) obtenida de un sujeto que no responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Dicho sujeto que no responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus puede incluir un sujeto que se predice que responde a la politerapia, pero dicha respuesta a la politerapia no es significativamente mejor que una respuesta prevista a una monoterapia con everolimus. La expresión "puntuación de biomarcador compuesto de control" también incluye una puntuación de biomarcador compuesto de una muestra (por ejemplo, del mismo tejido) obtenida
30 en el pasado de un sujeto que se sabe que no responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus y que se utiliza como referencia para futuras comparaciones para analizar muestras tomadas de sujetos para los que se va a predecir la respuesta a la politerapia.

En algunas formas de realización, se puede utilizar una "puntuación de biomarcador compuesto de control positivo" en lugar de una "puntuación de biomarcador compuesto de control". La "puntuación de biomarcador compuesto de control positivo" de un tipo de célula o tejido en particular puede preestablecerse alternativamente mediante un análisis de uno o más sujetos que se han identificado como sujetos que responden a una politerapia que comprende el compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Este valor de referencia preestablecido (que puede ser una puntuación de biomarcador compuesto promedio o una mediana de puntuación de biomarcador
40 compuesto tomada de múltiples sujetos que se han identificado como sujetos que responden a una politerapia) puede utilizarse después como la "puntuación de biomarcador compuesto de control positivo" en la comparación con la muestra de ensayo. En dicha comparación, se predice que el sujeto responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus si la puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión de:

50 (A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2,

55 que se están analizando es igual o comparable a la puntuación de biomarcador compuesto de control positivo de referencia preestablecida.

En determinadas formas de realización, la "puntuación de biomarcador compuesto de control" es un valor de corte predeterminado.

Valores de corte

En algunas formas de realización, los procedimientos descritos en el presente documento incluyen determinar si los niveles de expresión de la proteína se encuentran por encima o por debajo de un valor de corte predeterminado.

De acuerdo con los procedimientos y las composiciones que usan un análisis de un solo biomarcador descritos en el presente documento, un nivel de expresión basal de referencia de una proteína se identifica como un valor de corte, siendo un valor por encima o por debajo del mismo predictivo de la necesidad de una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. Además, de acuerdo con el procedimiento y las composiciones que usan un análisis de puntuación de biomarcador compuesto, un nivel de expresión basal de referencia de una proteína se identifica como un valor de corte, definiéndose por encima o por debajo del mismo un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con mejor resultado terapéutico para cada proteína biomarcadora. Algunos valores de corte no son absolutos en el sentido de que las correlaciones clínicas aún pueden seguir siendo significativas a lo largo de un intervalo de valores a ambos lados del corte; sin embargo, es posible seleccionar un valor de corte óptimo (por ejemplo, puntuaciones H variables) de un nivel de expresión de una proteína para un tipo de muestra en particular. Los valores de corte determinados para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento se pueden comparar, por ejemplo, con los intervalos publicados del nivel de expresión, pero se pueden individualizar según la metodología utilizada y la población de pacientes. Se entiende que las mejoras en los valores de corte óptimos podrían determinarse según la sofisticación de los procedimientos estadísticos utilizados y el número y la fuente de las muestras utilizadas para determinar los valores del nivel de referencia para los diferentes tipos de muestras. Por lo tanto, los valores de corte establecidos pueden ajustarse hacia arriba o hacia abajo, sobre la base de reevaluaciones periódicas o cambios en la metodología o la distribución de la población.

El nivel de expresión de referencia de una proteína se puede determinar mediante una diversidad de procedimientos. El nivel de referencia puede determinarse mediante la comparación del nivel de expresión de la proteína de interés en, por ejemplo, poblaciones de sujetos (por ejemplo, pacientes) que responden a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus o que no responden a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus. Esto se puede efectuar, por ejemplo, mediante un análisis de histograma, en el que se presenta gráficamente una cohorte completa de pacientes, en el que un primer eje representa el nivel de expresión de la proteína y un segundo eje representa el número de sujetos de la cohorte cuya muestra contiene una o más niveles de expresión de la proteína. A continuación, la determinación de los niveles de expresión de referencia de la proteína puede realizarse basándose en un nivel de expresión que distinga mejor estos grupos separados. El nivel de referencia puede ser un solo número, igualmente aplicable a todos los sujetos, o el nivel de referencia puede variar, según subpoblaciones específicas de sujetos. Por ejemplo, los sujetos mayores pueden tener un nivel de referencia diferente al de los sujetos más jóvenes para el mismo cáncer. Además, un sujeto con una enfermedad más avanzada (por ejemplo, un carcinoma de células renales metastásico o avanzado) puede tener un valor de referencia diferente que uno con una forma más leve de la enfermedad.

El valor de corte preestablecido puede ser un nivel de expresión de proteína o una puntuación de biomarcador compuesto que se determina basándose en un análisis ROC. Las curvas ROC se utilizan para determinar un valor de corte para una prueba clínica. Considérese la situación en la que hay dos grupos de pacientes y, mediante el uso de una técnica estándar establecida, se sabe que un grupo responde a una politerapia que comprende el compuesto de lenvatinib y everolimus, y se sabe que el otro no responde a una politerapia que comprende el compuesto de lenvatinib y everolimus. Se usa una medición utilizando una muestra biológica de todos los miembros de los dos grupos para evaluar la necesidad de una politerapia que comprenda el compuesto de lenvatinib y everolimus.

En el análisis de un solo biomarcador de la presente divulgación, el ensayo encontrará algunos sujetos, pero no todos, que responden a una politerapia que comprende el compuesto de lenvatinib y everolimus. La proporción de sujetos que responden a la politerapia encontrada mediante el ensayo con respecto al número total de sujetos que responden a la politerapia (conocido por la técnica estándar establecida) es la tasa positiva verdadera (también conocida como sensibilidad). En el análisis de un solo biomarcador de la presente divulgación, el ensayo encontrará algunos sujetos, pero no todos, que no responden a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus. La proporción de sujetos que no responden a la politerapia encontrada mediante el ensayo con respecto al número total de sujetos que no responden a la politerapia (conocido por la técnica estándar establecida) es la tasa negativa verdadera (también conocida como especificidad). La esperanza es que el análisis de la curva ROC del ensayo anterior encuentre un valor de corte que minimice la cantidad de falsos positivos y falsos negativos.

En el análisis de puntuación de biomarcador compuesto de la presente divulgación, el ensayo encontrará algunos sujetos, pero no todos, cuyos niveles de expresión de proteínas se encuentran dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico de una politerapia que comprende el compuesto de lenvatinib y everolimus. La proporción de sujetos con un mejor resultado terapéutico encontrados mediante el ensayo con respecto al número total de sujetos con un mejor resultado terapéutico (conocido por la técnica estándar establecida) es la tasa positiva verdadera (también conocida como sensibilidad). En el análisis de puntuación de biomarcador compuesto de la presente divulgación, el ensayo encontrará algunos sujetos, pero no todos, cuyos niveles de expresión de proteínas no se encuentran dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico de una politerapia que comprende el compuesto de lenvatinib y everolimus. La proporción de sujetos sin un mejor resultado terapéutico encontrados mediante el ensayo con respecto al número total de sujetos sin un mejor resultado terapéutico por la politerapia (conocido por la técnica estándar establecida) es la tasa negativa verdadera (también conocida como especificidad). La esperanza es que el análisis de la curva ROC del ensayo anterior encuentre un valor de corte que minimice la

cantidad de falsos positivos y falsos negativos.

En el análisis de puntuación de biomarcador compuesto de la presente divulgación, el ensayo encontrará algunos sujetos, pero no todos, que responden a una politerapia que comprende el compuesto de lenvatinib y everolimus. La proporción de sujetos que responden a la politerapia encontrada mediante el ensayo con respecto al número total de sujetos que responden a la politerapia (conocido por la técnica estándar establecida) es la tasa positiva verdadera (también conocida como sensibilidad). En el análisis de puntuación de biomarcador compuesto de la presente descripción, el ensayo encontrará algunos sujetos, pero no todos, que no responden a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus. La proporción de sujetos que no responden a la politerapia encontrada mediante el ensayo con respecto al número total de sujetos que no responden a la politerapia (conocido por la técnica estándar establecida) es la tasa negativa verdadera (también conocida como especificidad). La esperanza es que el análisis de la curva ROC del ensayo anterior encuentre un valor de corte que minimice la cantidad de falsos positivos y falsos negativos.

Un ROC es un diagrama gráfico que ilustra el rendimiento de un sistema estratificador de clases binario a medida que varía su umbral de discriminación. Se crea representando la fracción de verdaderos positivos entre los positivos frente a la fracción de falsos positivos entre los negativos, en diversos ajustes de umbral.

En una forma de realización, el nivel de expresión de la proteína se determina basándose en el análisis ROC que predice la respuesta tumoral con un valor predictivo positivo, en el que el nivel de expresión de la proteína igual o superior al valor de corte preestablecido es un nivel de expresión alto de la proteína y un valor inferior al valor de corte preestablecido es un nivel de expresión bajo de la proteína. El valor predictivo positivo es la proporción de resultados positivos del ensayo que son verdaderos positivos; refleja la probabilidad de que un ensayo positivo refleje la afección subyacente que se está analizando. Los procedimientos para construir curvas ROC y determinar valores predictivos positivos son bien conocidos en la técnica. En determinadas formas de realización, la respuesta tumoral es ORR, CBR o % de reducción máxima del tumor.

De forma similar, la puntuación de biomarcador compuesto se determina basándose en el análisis ROC.

En otra forma de realización, el valor de corte preestablecido puede ser un nivel de expresión de una proteína que se determina basándose en modelos de simulación que predicen la supervivencia, en los que un nivel de expresión de la proteína igual o superior al valor de corte preestablecido es un nivel de expresión alto de la proteína y un valor inferior al valor de corte preestablecido es un nivel de expresión bajo de la proteína. En algunas formas de realización, la supervivencia es PFS. En otras formas de realización, la supervivencia es OS.

En otra forma de realización, el valor de corte preestablecido puede ser una puntuación de biomarcador compuesto que se determina basándose en modelos de simulación que predicen la supervivencia, en el que una puntuación de biomarcador compuesto igual o superior al valor de corte preestablecido es una puntuación de biomarcador compuesto alta y un valor inferior al valor de corte preestablecido es una puntuación de biomarcador compuesto baja. En algunas formas de realización, la supervivencia es PFS. En otras formas de realización, la supervivencia es OS.

En determinadas formas de realización, el valor de corte preestablecido se encuentra dentro de un intervalo de percentil 20 a percentil 80 de poblaciones de sujetos. En algunas formas de realización, el valor de corte preestablecido se encuentra dentro de un intervalo de percentil 20 a percentil 75, de percentil 25 a percentil 80 o de percentil 25 a percentil 75 de poblaciones de sujetos. En algunas formas de realización, el valor de corte preestablecido es la mediana, el primer tercil, el segundo tercil, el primer cuartil, el tercer cuartil, el primer quintil, el segundo quintil, el tercer quintil o el cuarto quintil de poblaciones de sujetos.

Muestras biológicas

Las muestras biológicas adecuadas para los procedimientos descritos en el presente documento incluyen cualquier fluido biológico, célula, tejido o fracción de los mismos que contenga proteínas que se van a medir. Una muestra biológica puede ser, por ejemplo, un espécimen obtenido de un sujeto humano o puede derivarse de dicho sujeto. Por ejemplo, una muestra puede ser una sección de tejido obtenida mediante una biopsia, tejido tumoral archivado o células que se disponen en un cultivo tisular o se adaptan al mismo. Una muestra biológica también puede ser un fluido biológico tal como sangre, plasma, suero o una muestra de este tipo absorbida en un sustrato (por ejemplo, vidrio, polímero, papel). Una muestra biológica también puede incluir una muestra de tejido de carcinoma de células renales. En formas de realización específicas, la muestra biológica es una célula o células tumorales o un tejido tumoral obtenido de una región del sujeto que se sospecha que contiene un tumor o una lesión precancerosa. Por ejemplo, la muestra biológica puede ser una muestra de tumor de carcinoma de células renales. Una muestra biológica puede fraccionarse adicionalmente, si se desea, hasta una fracción que contenga tipos de células específicos. Por ejemplo, una muestra de sangre puede fraccionarse en suero o en fracciones que contengan tipos específicos de células sanguíneas, tales como glóbulos rojos o glóbulos blancos (leucocitos). Si se desea, una muestra puede ser una combinación de muestras de un sujeto tal como una combinación de una muestra de tejido y fluido.

Las muestras biológicas se pueden obtener de un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo

de desarrollar un carcinoma de células renales. En determinadas formas de realización, el sujeto tiene carcinoma de células renales avanzado o metastásico. En algunas formas de realización, el sujeto tiene carcinoma de células renales recurrente. En otras formas de realización, el sujeto tiene un carcinoma de células renales metastásico o avanzado irresecable. En otras formas de realización, el sujeto tiene un carcinoma de células renales en estadio III. En determinadas formas de realización, el sujeto tiene un carcinoma de células renales en estadio IV.

Puede emplearse cualquier procedimiento adecuado para obtener las muestras biológicas, aunque los ejemplos de procedimientos incluyen, por ejemplo, flebotomía, procedimiento de biopsia por aspiración con aguja fina. Las muestras también se pueden recoger, por ejemplo, mediante microdissección (por ejemplo, microdissección de captura por láser (LCM) o microdissección por láser (LMD)).

Los procedimientos para obtener y/o almacenar muestras que conserven la actividad o la integridad de las moléculas (por ejemplo, ácidos nucleicos o proteínas) en la muestra son bien conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, una muestra biológica puede ponerse en contacto posteriormente con uno o más agentes adicionales, tales como tampones y/o inhibidores, incluidos uno o más inhibidores de nucleasa, proteasa y fosfatasa, que protegen, o minimizan cambios en, las moléculas (por ejemplo, ácidos nucleicos o proteínas) de la muestra. Dichos inhibidores incluyen, por ejemplo, quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido etilenglicol bis(P-aminoetil éter) N,N,N1,N1-tetraacético (EGTA), inhibidores de proteasas tales como fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF), aprotinina, leupeptina, antipaína y similares, e inhibidores de fosfatasa tales como fosfato, fluoruro de sodio, vanadato y similares. Los tampones y las condiciones adecuadas para aislar moléculas son bien conocidos por los expertos en la técnica y pueden variar dependiendo, por ejemplo, del tipo de molécula en la muestra que se va a caracterizar (véase, por ejemplo, Ausubel et al. *Current Protocols in Molecular Biology* (Suplemento 47), John Wiley & Sons, Nueva York (1999)); Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988)); Harlow y Lane, *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1999)); Tietz *Textbook of Clinical Chemistry*, 3ª ed. Burtis y Ashwood, eds. W. B. Saunders, Filadelfia, (1999)). También se puede procesar una muestra para eliminar o minimizar la presencia de sustancias interferentes. Por ejemplo, una muestra biológica puede fraccionarse o purificarse para eliminar uno o más materiales que no son de interés. Los procedimientos de fraccionamiento o purificación de una muestra biológica incluyen, pero sin limitación, procedimientos cromatográficos tales como cromatografía líquida, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de exclusión por tamaño o cromatografía de afinidad. Para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento, una muestra puede encontrarse en una diversidad de estados físicos. Por ejemplo, una muestra puede ser líquida o sólida, puede disolverse o suspenderse en un líquido, puede estar en una emulsión o gel, o puede absorberse en un material.

Determinación de los niveles de expresión de proteínas

El nivel de expresión de una proteína puede determinarse midiendo la propia proteína o el ARNm que codifica la proteína.

En una forma de realización, la expresión de una proteína puede determinarse midiendo la cantidad o la concentración de la proteína. Los procedimientos para determinar la cantidad o la concentración de proteínas son bien conocidos en la técnica. Un procedimiento utilizado generalmente implica el uso de anticuerpos específicos para la proteína diana de interés. Por ejemplo, los procedimientos para determinar la expresión de proteínas incluyen, pero sin limitación, análisis de inmunotransferencia Western o de inmunotransferencia por puntos (*dot blot*), inmunohistoquímica (por ejemplo, inmunohistoquímica cuantitativa), inmunocitoquímica, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), mancha inmunoabsorbente ligada a enzimas (ELISPOT; Coligan, J. E., et al., eds. (1995) *Current Protocols in Immunology*, Wiley, Nueva York), radioinmunoensayo, inmunoensayo quimioluminiscente, inmunoensayo de electroquimioluminiscencia, inmunoensayo turbidimétrico de látex, inmunoensayo fotométrico de látex, ensayo inmunocromatográfico y análisis de matriz de anticuerpos (véanse, por ejemplo, las publicaciones de Estados Unidos Nº 20030013208 y 2004171068). Puede encontrarse una descripción adicional de muchos de los procedimientos anteriores y procedimientos adicionales para detectar la expresión de proteínas en, por ejemplo, Sambrook et al. (citado anteriormente).

En un ejemplo, el nivel de expresión de una proteína se puede determinar utilizando una técnica de inmunotransferencia Western. Por ejemplo, se puede preparar un lisado a partir de una muestra biológica, o la propia muestra biológica se puede poner en contacto con tampón de Laemmli y someterse a electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE). Las proteínas resueltas en SDS-PAGE, separadas por tamaño, pueden transferirse después a una membrana de filtro (por ejemplo, nitrocelulosa) y someterse a técnicas de inmunotransferencia utilizando un anticuerpo específico para la proteína marcado de forma detectable. La cantidad de anticuerpo marcado de forma detectable unido indica la cantidad de proteína en la muestra biológica.

En otro ejemplo, se puede usar un inmunoensayo para medir un nivel de expresión de proteína. Tal como se indicó anteriormente, se puede realizar un inmunoensayo con un anticuerpo que porte un resto de detección (por ejemplo, un agente fluorescente o una enzima). Las proteínas de una muestra biológica se pueden conjugar directamente con una matriz de fase sólida (por ejemplo, una placa de ensayo de múltiples pocillos, nitrocelulosa, agarosa, sefarosa, partículas codificadas o perlas magnéticas) o se pueden conjugar con un primer miembro de un par de unión específico (por ejemplo, biotina o estreptavidina) que se une a una matriz en fase sólida uniéndose a un segundo miembro del

par de unión específica (por ejemplo, estreptavidina o biotina). Dicha unión a una matriz de fase sólida permite que las proteínas se purifiquen de otros componentes irrelevantes o interferentes de la muestra biológica antes de ponerse en contacto con el anticuerpo de detección y también permite el lavado posterior del anticuerpo no unido. A este respecto, como anteriormente, la cantidad de anticuerpo marcado de forma detectable unido indica la cantidad de proteína en la muestra biológica.

No existe ninguna restricción particular en cuanto a la forma del anticuerpo y la presente divulgación incluye anticuerpos policlonales, así como anticuerpos monoclonales. También se incluyen los antisueros obtenidos mediante la inmunización de animales, tales como conejos con una proteína o fragmento de la misma, así como anticuerpos policlonales y monoclonales de todas las clases, anticuerpos humanos y anticuerpos humanizados producidos por recombinación genética.

Se puede usar una proteína intacta o su péptido parcial como antígeno para la inmunización. Como péptidos parciales de las proteínas, por ejemplo, se pueden proporcionar el fragmento amino (N) terminal de la proteína y el fragmento carboxi (C) terminal.

Un gen que codifica una proteína o un fragmento de la misma (por ejemplo, un fragmento inmunológico) que se va a expresar se inserta en un vector de expresión conocido y, mediante la transformación de las células huésped con el vector descrito en el presente documento, la proteína deseada o un fragmento de la misma se recupera del exterior o del interior de las células huésped utilizando procedimientos estándar. Esta proteína se puede utilizar como antígeno sensibilizante. Además, también pueden usarse las células que expresan la proteína, los lisados celulares o una proteína sintetizada químicamente de la invención como antígeno sensibilizante.

El mamífero que se inmuniza mediante el antígeno sensibilizante no está restringido; sin embargo, es preferible seleccionar animales considerando la compatibilidad con las células parentales utilizadas en la fusión celular. En general se utilizan animales pertenecientes a los órdenes de los roedores, lagomorfos o primates. Los ejemplos de animales que pertenecen al orden de los roedores que pueden utilizarse incluyen, por ejemplo, ratones, ratas y hámsteres. Los ejemplos de animales que pertenecen al orden de los lagomorfos que pueden utilizarse incluyen, por ejemplo, conejos. Los ejemplos de animales que pertenecen al orden de los primates que pueden usarse incluyen, por ejemplo, monos. Los ejemplos de monos que se pueden utilizar incluyen el infraorden de los catarrinos (monos del viejo mundo), por ejemplo, *Macaca fascicularis*, monos rhesus, babuinos sagrados y chimpancés.

Además, el anticuerpo de la presente descripción puede ser un fragmento de anticuerpo o un anticuerpo modificado, siempre que se una a la proteína que se va a medir. Por ejemplo, pueden proporcionarse Fab, F(ab')₂, Fv, o Fv monocatenario (scFv) en el que el Fv de cadena H y el Fv de cadena L están unidos adecuadamente por un enlazador (Houston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883, (1988)) como fragmentos de anticuerpos.

Los anticuerpos pueden conjugarse con diversas moléculas, tales como sustancias fluorescentes, sustancias radiactivas y sustancias luminiscentes. Los procedimientos para unir dichos restos a un anticuerpo ya están establecidos y son convencionales en el campo (véanse, por ejemplo, los documentos US 5.057.313 y 5.156.840).

Los ejemplos de procedimientos que analizan la actividad de unión a antígeno de los anticuerpos incluyen, por ejemplo, medición de la absorbancia, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunoensayo enzimático (EIA), radioinmunoensayo (RIA) y/o inmunofluorescencia. Por ejemplo, cuando se utiliza ELISA, se añade una proteína codificada por un biomarcador de la invención a una placa recubierta con los anticuerpos de la presente divulgación y, después, se añade la muestra de anticuerpos, por ejemplo, sobrenadantes de cultivo de células productoras de anticuerpos o anticuerpos purificados. A continuación se añade el anticuerpo secundario que reconoce al anticuerpo primario, que está marcado con fosfatasa alcalina y dichas enzimas, la placa se incuba y se lava, y se mide la absorbancia para evaluar la actividad de unión al antígeno después de añadir un sustrato enzimático tal como p-fosfato de nitrofenilo. Como proteína puede usarse un fragmento de proteína, por ejemplo, un fragmento que comprende un extremo C-terminal, o un fragmento que comprende un extremo N-terminal. Para evaluar la actividad del anticuerpo de la invención, se puede utilizar BIAcore (GE Healthcare).

Mediante el uso de estos procedimientos, se ponen en contacto el anticuerpo de la invención y una muestra que se supone que contiene una proteína que se va a medir, y la proteína se detecta o analiza detectando o analizando el complejo inmunitario formado entre el anticuerpo mencionado anteriormente y la proteína.

Los procedimientos de ensayo de cuantificación basados en espectrometría de masas, por ejemplo, pero sin limitación, enfoques basados en monitorización de múltiples reacciones (MRM) en combinación con patrones internos marcados con isótopos estables, son una alternativa a los inmunoensayos para la medición cuantitativa de proteínas. Estos enfoques no requieren el uso de anticuerpos y, por lo tanto, el análisis se puede realizar de forma rentable y rápida (véase, por ejemplo, Addona et al., Nat. Biotechnol., 27:633-641, 2009; Kuzyk et al., Mol. Cell Proteomics, 8:1860-1877, 2009; Paulovich et al., Proteomics Clin. Appl., 2:1386-1402, 2008). Además, la MRM ofrece capacidades superiores de multiplexación, lo que permite la cuantificación simultánea de numerosas proteínas en paralelo. La teoría básica de estos procedimientos está bien establecida y se utiliza ampliamente para el análisis del metabolismo de fármacos y el análisis farmacocinético de moléculas pequeñas.

Puede emplearse una diversidad de procedimientos adecuados para detectar y/o medir el nivel de expresión de ARNm de un gen. Por ejemplo, la expresión de ARNm puede determinarse mediante análisis de inmunotransferencia Northern o de inmunotransferencia por puntos, PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR; por ejemplo, RT-PCR cuantitativa), hibridación *in situ* (por ejemplo, hibridación *in situ* cuantitativa) o análisis de matriz de ácidos nucleicos (por ejemplo, matrices de oligonucleótidos o chips génicos). Los detalles de dichos procedimientos se describen a continuación y en, por ejemplo, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, segunda edición, vol. 1, 2 y 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, Nueva York, Estados Unidos, nov. 1989; Gibson et al. (1999) *Genoma Res.*, 6(10):995-100i; y Zhang et al. (2005) *Environ. Sci. Technol.*, 39(8):2777-2785; la publicación de Estados Unidos N° 2004086915; la patente europea N° 0543942 y la patente de Estados Unidos N° 7.101.663.

En una forma de realización, la presencia o la cantidad de poblaciones discretas de ARNm en una muestra biológica puede determinarse aislando el ARNm total de la muestra biológica (véase, por ejemplo, Sambrook et al. (citado anteriormente) y la patente de Estados Unidos N° 6.812.341) y sometiendo el ARNm aislado a electroforesis en gel de agarosa para separar el ARNm por tamaño. Los ARNm separados por tamaño se transfieren después (por ejemplo, por difusión) a un soporte sólido, tal como una membrana de nitrocelulosa. La presencia o la cantidad de poblaciones de ARNm en la muestra biológica puede determinarse después usando una o más sondas de polinucleótidos marcadas de forma detectable, complementarias a la secuencia de ARNm de interés, que se unen y, por lo tanto, hacen detectables sus poblaciones de ARNm correspondientes. Las marcas detectables incluyen, por ejemplo, marcas fluorescentes (por ejemplo, umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansilo, alofococianina (APC) o ficoeritrina), luminiscentes (por ejemplo, europio, terbio, nanopartículas Qdot™ suministradas por Quantum Dot Corporation, Palo Alto, CA), radiológicas (por ejemplo, 125I, 131I, 35S, 32P, 33P o 3H) y enzimáticas (peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa o acetilcolinesterasa).

En otra forma de realización, la presencia o la cantidad de poblaciones discretas de ARNm en una muestra biológica puede determinarse utilizando matrices de ácidos nucleicos (u oligonucleótidos) (por ejemplo, una matriz descrita a continuación en "Matrices y kits"). Por ejemplo, el ARNm aislado de una muestra biológica se puede amplificar utilizando RT-PCR con, por ejemplo, síntesis de primera cadena mediada por cebador hexámero u oligo(dT) aleatorio. Los amplicones se pueden fragmentar en segmentos más cortos. La etapa de RT-PCR se puede utilizar para marcar de forma detectable los amplicones o, opcionalmente, los amplicones se pueden marcar de forma detectable después de la etapa de RT-PCR. Por ejemplo, la marca detectable puede conjugarse enzimáticamente (por ejemplo, mediante traducción de Nick o quinasa tal como polinucleótido quinasa T4) o químicamente con los amplicones utilizando cualquiera de una diversidad de técnicas adecuadas (véase, por ejemplo, Sambrook et al., citado anteriormente). Los amplicones marcados de forma detectable se ponen después en contacto con una pluralidad de conjuntos de sondas de polinucleótidos, en los que cada conjunto contiene una o más de una sonda de polinucleótidos (por ejemplo, un oligonucleótido) específica para (y capaz de unirse a) un amplicón correspondiente, y en los que la pluralidad contiene muchos conjuntos de sondas, cada uno correspondiente a un amplicón diferente.

Generalmente, los conjuntos de sondas se unen a un soporte sólido y la posición de cada conjunto de sondas está predeterminada sobre el soporte sólido. La unión de un amplicón marcado de forma detectable a una sonda correspondiente de un conjunto de sondas indica la presencia o la cantidad de un ARNm diana en la muestra biológica. Se describen procedimientos adicionales para detectar la expresión de ARNm utilizando matrices de ácidos nucleicos, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos N° 5.445.934, 6.027.880, 6.057.100, 6.156.501, 6.261.776 y 6.576.424.

Los procedimientos de detección y/o cuantificación de una marca detectable dependen de la naturaleza de la marca. Los productos de reacciones catalizadas por enzimas apropiadas (cuando la marca detectable es una enzima; véase anteriormente) pueden ser, sin limitación, fluorescentes, luminiscentes o radiactivos o pueden absorber luz visible o ultravioleta. Los ejemplos de detectores adecuados para detectar dichas marcas detectables incluyen, sin limitación, película de rayos X, contadores de radiactividad, contadores de centelleo, espectrofotómetros, colorímetros, fluorómetros, luminómetros y densitómetros.

Creación de un perfil de respuesta

Los procedimientos descritos en el presente documento también se pueden utilizar para generar un perfil de respuesta para un sujeto que tiene carcinoma de células renales a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus. El perfil puede incluir, por ejemplo, información que indique el nivel de expresión basal de las proteínas que se requiere medir antes del tratamiento con lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y/o el análisis histológico de cualquier carcinoma de células renales. La información resultante (perfil de respuesta a la terapia con lenvatinib) se puede utilizar para predecir que un sujeto (por ejemplo, un paciente humano) que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar carcinoma de células renales responda a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus.

Se entiende que el perfil de respuesta de un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) puede estar

en forma electrónica (por ejemplo, un registro electrónico del paciente almacenado en un ordenador u otro medio electrónico (legible informáticamente) tal como un DVD, CD o disquete) o en forma escrita. El perfil de respuesta del compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) también puede incluir información para varios sujetos (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, 10, 20, 30, 50 o 100 o más) (por ejemplo, pacientes humanos). Dichos perfiles de respuesta de múltiples sujetos pueden usarse, por ejemplo, en análisis (por ejemplo, análisis estadísticos) de características específicas de cohortes de sujetos.

La capacidad de respuesta de un sujeto a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus se puede clasificar de varias maneras y la clasificación depende de la enfermedad del sujeto, la gravedad de la enfermedad y el medicamento específico que se esté administrando al sujeto. En el sentido más simple, la capacidad de respuesta es cualquier disminución en el estado de la enfermedad en comparación con el pretratamiento, y la falta de respuesta es la falta de cualquier cambio en el estado de la enfermedad en comparación con el pretratamiento. La capacidad de respuesta de un sujeto (por ejemplo, un ser humano) con un carcinoma de células renales se puede clasificar en función de uno o más de varios indicios clínicos objetivos, tales como, pero sin limitación, tamaño del tumor, beneficio clínico (CB), PFS, OS, % de reducción máxima del tumor MTS u ORR.

"Beneficio clínico" se refiere a tener uno de los siguientes estados: respuesta completa (CR), respuesta parcial (PR); o enfermedad estable (SD) con 6 meses o más de PFS. "Respuesta completa" significa la desaparición completa de todas las lesiones diana. "Respuesta parcial" significa una disminución de al menos el 30 % en la suma del LD de las lesiones diana, tomando como referencia el LD sumado basal. "Enfermedad progresiva" (PD) significa al menos el 20% de aumento en la suma del LD de las lesiones diana, tomando como referencia el LD sumado más pequeño registrado desde el inicio del tratamiento, o la aparición de una o más lesiones nuevas. "Enfermedad estable" significa ni suficiente reducción de las lesiones diana como para calificar como PR ni suficiente aumento como para calificar como PD, tomando como referencia el LD sumado más pequeño desde el inicio del tratamiento.

La "supervivencia general" (OS) se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la muerte por cualquier causa. "Aleatorización" significa la aleatorización de un paciente en un grupo de ensayo o un grupo de control cuando se determina el plan de terapia para un paciente.

"Supervivencia libre de progresión" (PFS) se refiere al tiempo desde la fecha de aleatorización hasta la fecha de la primera documentación de progresión de la enfermedad o la muerte, lo que suceda en primer lugar.

"% de reducción máxima del tumor" (MTS) significa el cambio porcentual de la suma de los diámetros de las lesiones diana, tomando como referencia la suma de los diámetros basales.

La "tasa de respuesta objetiva" (ORR) compara sujetos con CR o PR con sujetos con SD o PD.

El "mejor resultado terapéutico" se puede evaluar basándose en el tamaño del tumor, CB, PFS, OS, % de MTS u ORR. En una forma de realización, el mejor resultado terapéutico es una PFS más larga o una OS más prolongada.

Kits

La presente solicitud también proporciona kits. En determinadas formas de realización, el kit puede incluir un anticuerpo o anticuerpos que pueden usarse para detectar la proteína que se requiere medir o su concentración o niveles de expresión. Los anticuerpos del kit pueden ser monoclonales o policlonales y pueden conjugarse además con una marca detectable. Los kits pueden, opcionalmente, contener instrucciones para detectar y/o medir la concentración de la proteína que se requiere medir en una muestra biológica.

Los kits pueden incluir opcionalmente, por ejemplo, un control (por ejemplo, un patrón de concentración para la proteína que se requiere medir). En algunos casos, el control puede ser un inserto (por ejemplo, un inserto de papel o un medio electrónico tal como un CD, DVD o disquete) que contiene un nivel de expresión o intervalos de niveles de expresión de la proteína que predicen la necesidad de una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus en el análisis de un solo biomarcador o que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico en el análisis compuesto. El kit para el análisis compuesto puede incluir opcionalmente un inserto que contiene un valor o intervalo de puntuación de biomarcador compuesto de control que predice la necesidad de una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus.

En algunas formas de realización, los kits pueden incluir uno o más reactivos para procesar una muestra biológica (por ejemplo, reactivos de calibración, tampones, diluyentes, reactivos de color, reactivos para detener una reacción). Por ejemplo, un kit puede incluir reactivos para aislar una proteína a partir de una muestra biológica y/o reactivos para detectar la presencia y/o la cantidad de la proteína que se requiere medir en una muestra biológica (por ejemplo, un anticuerpo que se une a la proteína y/o un anticuerpo que se une al anticuerpo que se une a la proteína).

En determinadas formas de realización, el kit incluye al menos una microplaca (por ejemplo, una placa de 96 pocillos;

es decir, 12 filas de 8 pocillos). La microplaca se puede suministrar con su cubierta de placa correspondiente. La microplaca puede ser de poliestireno o de cualquier otro material adecuado. La microplaca puede tener un recubrimiento del anticuerpo que se utiliza para identificar la presencia de una proteína que se va a medir dentro de cada pocillo. El anticuerpo puede conjugarse con una marca detectable. El kit también puede incluir al menos una tira adhesiva.

En algunas formas de realización, los kits pueden incluir un paquete informático para analizar los resultados de, por ejemplo, un perfil de expresión o un análisis de micromatriz.

Los kits descritos en el presente documento también pueden, opcionalmente, incluir instrucciones para administrar una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib y everolimus, en las que el nivel de expresión basal de al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en IL-18BP, ICAM-1, FGF-21 y M-CSF o la puntuación de biomarcador compuesto calculada basándose en los niveles de expresión basales de:

(A) al menos cinco proteínas que comprenden (i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2, o (ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A, o

(B) al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2

predice que un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar carcinoma de células renales responde a una politerapia que comprende un compuesto de lenvatinib (por ejemplo, mesilato de lenvatinib) y everolimus.

Ejemplos

Ejemplo 1: Medición de los niveles de expresión de biomarcadores en pacientes que han recibido un tratamiento con lenvatinib y/o everolimus

Se realizó un estudio de fase 2 para lenvatinib en pacientes con carcinoma de células renales (RCC) metastásico tras una terapia dirigida a VEGF. Los pacientes con carcinoma de células renales metastásico tras una terapia dirigida a VEGF previa recibieron mesilato de lenvatinib ("lenvatinib"), everolimus o la combinación de los mismos hasta la progresión de la enfermedad o el desarrollo de toxicidades no gestionables. Un total de 153 sujetos se aleatorizaron en 3 ramas de tratamiento para recibir:

1) 18 mg/día de lenvatinib (como base libre de lenvatinib; lo mismo se aplicará en lo sucesivo) + 5 mg/día de everolimus (rama A [rama de tratamiento LEN/EVE], N = 51),

2) 24 mg/día de lenvatinib (rama B [rama de tratamiento LEN], N = 52), o

3) 10 mg/día de everolimus (rama C [rama de tratamiento EVE], N = 50).

Cada Ciclo constaba de 4 semanas (28 días)

Se recogieron muestras de sangre para evaluaciones de biomarcadores de sujetos en las 3 ramas de tratamiento (LEN/EVE, N = 49; LEN, N = 51; EVE, N = 47; Total, N = 147) el Día 1 del Ciclo 1 (pretratamiento). En muestras de 145 sujetos (94,8% de toda la población con intención de tratar [ITT]; LEN/EVE, N = 49; LEN, N = 50; EVE, N = 46), se analizaron 40 biomarcadores experimentales que se muestran en la tabla 1 usando 19 paneles de inmunoensayo CustomMAP preconfigurados y se midieron mediante una plataforma basada en citometría de flujo múltiplex por el fabricante (perfil de múltiples analitos (MAP)) en un Myriad RBM (Austin, TX, Estados Unidos). Los resultados se analizaron posteriormente en análisis de correlación descritos en los ejemplos siguientes.

[Tabla 1]

Tabla 1. 40 biomarcadores experimentales

Abreviatura	Nombre del biomarcador
ANG-1	Angiopoyetina 1
ANG-2	Angiopoyetina 2
CRP	Proteína C-reactiva
EOTAXINA1	Eotaxina-1
FGF-21	Factor de crecimiento de fibroblastos 21
FGF-23	Factor de crecimiento de fibroblastos 23

Abreviatura	Nombre del biomarcador
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular-1
IFN-gamma	Interferón gamma
IL-10	Interleucina 10
IL-12P70	Interleucina 12 subunidad p70
IL-13	Interleucina 13
IL-18	Interleucina 18
IL-18BP	Proteína de unión a la interleucina 18
IL-1beta	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IP-10	Proteína inducida por interferón gamma 10
ITAC	Quimioatrayente de células T alfa inducible por interferón
KIM-1	Molécula de lesión renal 1
M-CSF	Factor estimulante de colonias de macrófagos
MCP-1	Proteína quimiotáctica de monocitos 1
MIG	Monocina inducida por interferón gamma
MIP-1 alfa	Proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa
MMP-9	Metaloproteinasa de matriz 9
PLGF	Factor de crecimiento de la placenta
RANTES	Células T normales, reguladas en activación, expresadas y secretadas
SDF-1	Factor 1 derivado de células estromales
TIE-2	Tirosina quinasa con dominios de homología a la inmunoglobulina y al factor de crecimiento epidérmico 2
TIMP-1	Inhibidor tisular de metaloproteinasas 1
TNF alfa	Factor de necrosis tumoral alfa
TNFR2	Receptor del factor de necrosis tumoral 2
VCAM-1	Molécula de adhesión de células vasculares 1
VEGF-A	Factor de crecimiento endotelial vascular A
VEGF-D	Factor de crecimiento endotelial vascular D
VEGFR-1	Receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular
VEGFR-2	Receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular
VEGFR-3	Receptor 3 del factor de crecimiento endotelial vascular

Ejemplo 2: análisis de un solo biomarcador con PFS y OS

Para los niveles basales de cada biomarcador sérico, se realizaron análisis de correlación con PFS mediante regresión de Cox univariable en cada una de las 3 ramas. La relación de riesgos (HR) para biomarcadores con valores continuos se calculó como una relación de riesgos entre los valores medidos con una desviación estándar (HR por desviación estándar). Los niveles basales de IL-18BP en suero se asociaron con la PFS en la rama LEN/EVE (tabla 2). En las tablas siguientes, FDR se refiere a la tasa de descubrimiento falso, MST se refiere a la mediana del tiempo de supervivencia y CI se refiere al intervalo de confianza.

[Tabla 2]

Tabla 2: Análisis de regresión de Cox univariable de los niveles basales de IL-18BP con PFS en las ramas LEN/EVE

y EVE

Marcador	LEN/EVE				EVE			
	N	HR (95% de CI)	valor P	Valor P con FDR	N	HR (95% de CI)	valor P	Valor P con FDR
IL-18BP	48	1,720 (1,226, 2,413)	0,0017	0,0457	46	1,207 (0,837, 1,740)	0,3149	0,8858

- 5 Para IL-18BP, se realizó un análisis dicotomizado para correlacionar los niveles basales de biomarcadores séricos en sujetos con niveles bajos y altos con PFS en las 3 ramas. Los puntos de corte fueron mediana, primer tercil, segundo tercil, primer cuartil o tercer cuartil. La asociación entre los grupos y la PFS se exploró mediante la regresión de Cox univariable y la prueba de rango logarítmico con cada uno de los puntos de corte seleccionados. En el punto de corte del segundo tercil, la mediana de PFS para el grupo de IL-18BP alto (5,6 meses) fue más corta que la del grupo bajo (17,5 meses) en la rama LEN/EVE (tabla 3). El análisis de regresión de Cox multivariable con la rama de tratamiento, el nivel basal y la PFS mostró interacciones en el punto de corte del segundo tercil en comparación con la rama EVE (valor p de interacción = 0,0389). Estos resultados sugirieron que los niveles de IL-18BP bajos tenían funciones predictivas potenciales para una PFS más prolongada en la rama LEN/EVE en comparación con la rama EVE.
- 10

[Tabla 3]

Tabla 3. Análisis de corte de nivel basal de IL-18BP con PFS en las ramas LEN/EVE y EVE

Marcador	Cuantil de corte	LEN/EVE										EVE			
		Grupo bajo		Grupo alto		HR (95% de CI)	Rango log		Grupo bajo		Grupo alto		Rango log		
							Valor P	Valor P con FDR					Valor P	Valor P con FDR	
		N	MST	N	MST	N	MST	N	MST	N	MST	N	MST	Valor P	Valor P con FDR
IL-18BP	0.67	35	17,5	1,3	5,6	0.0013	0.0333	3.926 (1.610, 9.576)	29	5,5	17	3,5	0,6157	0,7817	HR (95% de CI) 1.194 (0.595, 2.398)

Para los niveles basales de cada biomarcador sérico, se realizaron análisis de correlación con OS mediante regresión de Cox univariable en cada una de las 3 ramas. La relación de riesgos (HR) para biomarcadores con valores continuos se calculó como una relación de riesgos entre los valores medidos con una desviación estándar (HR por desviación estándar). Los niveles séricos basales de FGF-21, ICAM-1 y M-CSF se asociaron con OS en la rama LEN/EVE (tabla 4).

[Tabla 4]

Tabla 4: Análisis de regresión de Cox univariable de los niveles basales de FGF-21, ICAM-1 y M-CSF con OS en las ramas LEN/EVE y EVE

Marcador	LEN/EVE				EVE			
	N	HR (95% de CI)	Valor P	Valor P con FDR	N	HR (95% de CI)	Valor P	Valor P con FDR
FGF-21	48	1,255 (1,053, 1,496)	0,0114	0,0307	46	0,996 (0,615, 1,612)	0,9860	0,9860
ICAM-1	48	1,505 (1,116, 2,028)	0,0073	0,0219	46	1,017 (0,688, 1,502)	0,9339	0,9698
CSF-M	48	1,784 (1,254, 2,539)	0,0013	0,0058	46	1,366 (0,995, 1,875)	0,0539	0,1456

Para FGF-21, ICAM-1 y M-CSF, se realizaron análisis dicotomizados para correlacionar los niveles basales de biomarcadores séricos en sujetos con niveles bajos y altos de OS en las 3 ramas mediante regresión de Cox univariable y la prueba de rango logarítmico en el punto de corte de la mediana. Los niveles basales bajos de FGF-21, ICAM-1 y M-CSF se asociaron con una OS más prolongada en la rama LEN/EVE (tabla 5). El análisis de regresión de Cox multivariable con la rama de tratamiento, el nivel basal y la OS mostró interacciones en el punto de corte de la mediana en comparación con la rama EVE (valor p de interacción = 0,0223, 0,0039 y 0,0362 para FGF-21, ICAM-1 y M-CSF, respectivamente). Estos resultados sugirieron que los niveles bajos de FGF-21, ICAM-1 y M-CSF tenían funciones predictivas potenciales para una OS más prolongada en la rama LEN/EVE en comparación con la rama EVE.

[Tabla 5]

Tabla 5. Análisis de corte de nivel basal de FGF-21, ICAM-1 y M-CSF con OS en las ramas LEN/EVE y EVE

Marcador	Cuantil de corte	LENEVE						EVE					
		Grupo bajo		Grupo alto		Rango log		HR (95% de CI)	Grupo bajo		Grupo alto		HR (95% de CI)
		N	MST	N	MST	Valor P	Valor P con FDR		N	MST	N	MST	Valor P con FDR
FGF-21	0,5	25	32,2	23	20,5	0,0142	0,0349	2,474 (1,174, 5,214)	25	15,3	21	19,5	0,3885
ICAM-1	0,5	27	32,2	21	12,6	0,0028	0,0137	2,916 (1,398, 6,081)	21	13,3	24	18,5	0,4809
M-CSF	0,5	28	NE	20	14,5	0,0002	0,0044	2,431 (1,781, 7,959)	20	17,2	26	15,4	0,6968

5 Ejemplo 3: Análisis de puntuación de biomarcador compuesto (5 marcadores) con PFS

De acuerdo con Voss, et al., 2016 (Br J Cancer. 15 de marzo de 2016; 114 (6): 642-9), se realizaron análisis de puntuación de biomarcador compuesto (CBS) utilizando 5 biomarcadores seleccionados (HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2) de los que los niveles basales mostraron la asociación más fuerte en el análisis de corte por mediana con PFS en la rama LEN/EVE (tabla 6).

10

[Tabla 6]

Tabla 6. Asociaciones de niveles basales de biomarcadores con PFS en la rama LEN+EVE

Marcador	Corte		Grupo bajo		Grupo alto		Rango log		HR (95% de IC)
	Cuantil	Valor	N	Mediana de PFS (meses)	N	Mediana de PFS (meses)	Valor <i>P</i>	con FDR	
HGF	0,50	7,350 µg/l	28	20,1	20	5,6	0,0264	0,1508	2,550 (1,088, 5,974)
MIG	0,50	1250 ng/l	30	20,1	18	7,4	0,0299	0,1508	2,506 (1,062, 5,914)
IL-18BP	0,50	17,0 µg/l	24	17,5	24	6,9	0,0305	0,1508	2,431 (1,059, 5,580)
IL-18	0,50	264,0 ng/l	28	14,7	20	5,6	0,0317	0,1508	2,418 (1,058, 5,526)
ANG-2	0,50	6,800 µg/l	27	20,1	21	5,9	0,0351	0,1508	2,360 (1,040, 5,355)

Para cada biomarcador integrado en el CBS, se asignó un valor de 1 si el nivel de biomarcador basal respectivo se encontraba dentro del intervalo determinado para asociarse con una supervivencia más prolongada en el análisis de corte de un solo biomarcador; se asignó un valor de 0 si el nivel de biomarcador basal respectivo se categorizó en el intervalo asociado con una supervivencia más corta. La suma de los valores individuales (0 frente a 1 para cada uno de los 5 biomarcadores) se calculó como CBS para cada sujeto (intervalo 0-5). Después, los pacientes se dicotomizaron por CBS como grupos bajo y alto (0 frente a 1-5, 0-1 frente a 2-5, 0-2 frente a 3-5, 0-3 frente a 4-5 y 0-4 frente a 5). Las asociaciones entre los grupos y la PFS se exploraron mediante regresión de Cox univariable y la prueba de rango logarítmico con cada uno de los puntos de dicotomización seleccionados en cada rama de tratamiento. Los valores *P* de interacción se estimaron mediante un análisis de regresión de Cox multivariable con la rama de tratamiento, el nivel basal y la PFS. Las asociaciones entre los grupos y la tasa de respuesta objetiva (ORR) también se exploraron mediante la prueba exacta de Fisher.

Hubo una diferencia significativa en la PFS entre los grupos de CBS alta y baja en la rama LEN/EVE, mientras que no hubo diferencias significativas en la PFS entre los grupos de CBS baja y alta en la rama EVE (figura 1). En la rama LEN/EVE, la PFS fue más prolongada en pacientes con una puntuación CBS alta (3-5) que en pacientes con una puntuación CBS baja (0-2) (mPFS: 20,1 meses para CBS alta y 5,6 meses para CBS baja, HR: 0,279, valor *P*: 0,0022). En los pacientes con una puntuación CBS alta (3-5), la PFS fue más prolongada en la rama LEN/EVE que en la rama EVE (mPFS: 20,1 meses en LEN/EVE y 3,6 meses en EVE, HR: 0,186, valor *p*: < 0,0001, tabla 7).

El análisis de regresión multivariable de Cox mostró una interacción significativa entre la PFS con LEN+EVE frente al grupo EVE y CBS (*p* = 0,0154).

En los pacientes con una puntuación CBS alta (3-5), la ORR fue mayor en las ramas LEN/EVE (57,1%) que en las ramas EVE (5,0%) (valor *P* = 0,0002, tabla 7).

[Tabla 7]

Tabla 7: Mediana de PFS y ORR en las ramas LEN+EVE y EVE por categoría CBS baja (0-2) y alta (3-5)

	CBS baja (0-2)			CBS alta (3-5)		
	LEN/EVE	EVE	valor <i>P</i>	LEN/EVE	EVE	valor <i>P</i>
	(N=20)	(N=24)		(N=28)	(N=20)	
mPFS	5,6 meses	5,5 meses	0,2387	20,1 meses	3,6 meses	<0,0001
ORR	30,0%	4,2%	0,0353	57,1%	5,0%	0,0002

Estos datos muestran que la CBS alta se correlacionó con el beneficio en la PFS, y la puntuación se puede utilizar para identificar a los pacientes que claramente se benefician de la politerapia en comparación con la monoterapia con EVE.

Ejemplo 4: Análisis de puntuación de biomarcador compuesto (5 marcadores) con OS

De forma similar al ejemplo 3, los análisis de CBS se realizaron utilizando 5 biomarcadores seleccionados (TIMP-1,

M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A) de los que los niveles basales mostraron la asociación más fuerte en el análisis de corte por mediana con OS en la rama LEN/EVE (tabla 8).

[Tabla 8]

5

Tabla 8. Asociaciones de los niveles basales de CAF con OS en la rama LEN+EVE

Marcador	Corte		Grupo bajo		Grupo alto		Rango log		HR (95% de CI)
	Cuantil	Valor	N	Mediana de OS (meses)	N	Mediana de OS (meses)	Valor <i>P</i>	con FDR	
TIMP-1	0,500	199,0 µg/l	26	NE	22	16,1	0,0003	0,0044	3,770 (1,741, 8,162)
M-CFS	0,500	0,9650 µg/l	28	NE	20	14,5	0,0002	0,0044	3,765 (1,781, 7,959)
IL-18BP	0,500	17,00 µg/l	24	32,2	24	18,4	0,0008	0,0073	3,469 (1,605, 7,501)
ANG-2	0,500	6,800 µg/l	27	NE	21	21,7	0,0030	0,0137	3,005 (1,402, 6,442)
VEGF-A	0,500	305,0 ng/l	29	32,2	19	20,5	0,0021	0,0137	2,993 (1,441, 6,213)

10 Para cada biomarcador integrado en la CBS, se asignó un valor de 1 si el nivel basal del biomarcador respectivo se encontraba dentro del intervalo previamente determinado para asociarse con una supervivencia más prolongada en el análisis de corte de un solo biomarcador; se asignó un valor de 0 si el nivel de biomarcador basal respectivo se categorizó en el intervalo asociado con una supervivencia más corta. La suma de los valores individuales (0 frente a 1 para cada uno de los 5 biomarcadores) se calculó como CBS para cada sujeto (intervalo 0-5; alto = supervivencia favorable). Después, los pacientes se dicotomizaron por CBS como grupos bajo y alto (0 frente a 1-5, 0-1 frente a 2-5, 0-2 frente a 3-5, 0-3 frente a 4-5 y 0-4 frente a 5). Las asociaciones entre los grupos y la OS se exploraron mediante regresión de Cox univariable y la prueba de rango logarítmico con cada uno de los puntos de dicotomización seleccionados en cada rama de tratamiento. Los valores *P* de interacción se estimaron mediante un análisis de regresión de Cox multivariable con la rama de tratamiento, el nivel basal y la OS. Las asociaciones entre los grupos y la tasa de respuesta objetiva (ORR) también se exploraron mediante la prueba exacta de Fisher.

20 Hubo una diferencia significativa en la OS entre los grupos de CBS alta y baja en la rama LEN/EVE, mientras que no hubo diferencias significativas en la OS entre los grupos de CBS baja y alta en la rama EVE (figura 2). En la rama LEN/EVE, la OS fue más prolongada en pacientes con una puntuación CBS alta (3-5) que en pacientes con una puntuación CBS baja (0-2) (mediana de OS [mOS]: no evaluable (NE) para CBS alta y 12,6 meses para CBS baja, HR = 0,150, valor *p* < 0,0001). En los pacientes con una puntuación CBS alta (3-5), la OS fue más prolongada en la rama LEN/EVE que en la rama EVE (mOS: NE en LEN/EVE y 17,4 meses en EVE, HR: 0,331, valor *p*: 0,0079, tabla 9).

30 El análisis de regresión multivariable de Cox mostró una interacción significativa entre la PFS con LEN+EVE frente al grupo EVE y CBS (*p* = 0,0125).

En los pacientes con una puntuación CBS alta (3-5), la ORR fue superior en las ramas LEN/EVE (63,0%) que en las ramas EVE (5,3%) (valor *p* < 0,0001, tabla 9).

35 [Tabla 9]

Tabla 9: Mediana de OS y ORR en las ramas LEN+EVE y EVE por categoría CBS baja (0-2) y alta (3-5)

	CBS baja (0-2)			CBS alta (3-5)		
	LEN/EVE	EVE	valor <i>P</i>	LEN/EVE	EVE	valor <i>P</i>
	(N=21)	(N=25)		(N=27)	(N=19)	
mOS	12,6 meses	15,0 meses	0,5560	NE	17,4 meses	0,0079
ORR	23,8%	4,0%	0,0790	63,0%	5,3 %	<0,0001

40 Estos datos muestran que la CBS alta se correlacionó con el beneficio de la OS, y la puntuación se puede usar para identificar a los pacientes que claramente se benefician de la politerapia en comparación con la monoterapia con EVE.

Ejemplo 5: Análisis de puntuación de biomarcador compuesto (2 marcadores) con PFS

IL-18BP y ANG-2 fueron comunes en los biomarcadores seleccionados para el análisis de CBS para PFS y OS en los ejemplos 3 y 4. Utilizando estos 2 biomarcadores, se realizó el análisis de CBS (2 marcadores) con PFS.

Para cada biomarcador integrado en el CBS, se asignó un valor de 1 si el nivel de biomarcador basal respectivo se encontraba dentro del intervalo determinado para asociarse con una supervivencia más prolongada en el análisis de corte de un solo biomarcador; se asignó un valor de 0 si el nivel de biomarcador basal respectivo se categorizó en el intervalo asociado con una supervivencia más corta. La suma de los valores individuales (0 frente a 1 para cada uno de los 2 biomarcadores) se calculó como CBS para cada sujeto (intervalo 0-2). Después, los pacientes se dicotomizaron por CBS como grupos bajo y alto (0 frente a 1-2 y 0-1 frente a 2). Las asociaciones entre los grupos y la PFS se exploraron mediante regresión de Cox univariable y la prueba de rango logarítmico con cada uno de los puntos de dicotomización seleccionados en cada rama de tratamiento. Los valores P de la interacción se estimaron mediante un análisis de regresión de Cox multivariable con la rama de tratamiento, el nivel basal y la PFS. Las asociaciones entre los grupos y la tasa de respuesta objetiva (ORR) también se exploraron mediante la prueba exacta de Fisher.

Hubo una diferencia significativa en la PFS entre los grupos de CBS baja y alta en la rama LEN/EVE, mientras que no hubo diferencias significativas en la PFS entre los grupos de CBS baja y alta en la rama EVE (figura 3). En la rama LEN/EVE, la PFS fue más prolongada en pacientes con una puntuación CBS alta (1-2) que en pacientes con una puntuación CBS baja (0) (mPFS: 17,5 meses para CBS alta y 5,6 meses para CBS baja, HR = 0,364, valor p = 0,0130). En los pacientes con una puntuación CBS alta (1-2), la PFS fue más prolongada en la rama LEN/EVE que en la rama EVE (mPFS: 17,5 meses en LEN/EVE y 5,5 meses en EVE, HR: 0,254, valor p: <0,0001, tabla 10).

El análisis de regresión multivariable de Cox no mostró ninguna interacción significativa entre la PFS con LEN+EVE frente al grupo EVE y CBS (p = 0,2297).

En los pacientes con una puntuación CBS alta (1-2), la ORR fue superior en las ramas LEN/EVE (54,3%) que en las ramas EVE (6,9%) (valor p < 0,0001, tabla 10).

[Tabla 10]

Tabla 10: Mediana de PFS y ORR en las ramas LEN+EVE y EVE por categoría CBS baja (0) y alta (1-2)

	CBS baja (0)			CBS alta (1-2)		
	LEN/EVE	EVE	valor P	LEN/EVE	EVE	valor P
	(N=13)	(N=15)		(N=35)	(N=29)	
mPFS	5,6 meses	3,0 meses	0,2178	17,5 meses	5,5 meses	<0,0001
ORR	23,1%	0,0%	0,0873	54,3%	6,9%	<0,0001

Ejemplo 6: Análisis de puntuación de biomarcador compuesto (2 marcadores) con OS

IL-18BP y ANG-2 fueron comunes en los biomarcadores seleccionados para el análisis de CBS para PFS y OS en los ejemplos 3 y 4. Usando estos 2 biomarcadores, se realizó el análisis de CBS (2 marcadores) con OS.

Para cada biomarcador integrado en el CBS, se asignó un valor de 1 si el nivel de biomarcador basal respectivo se encontraba dentro del intervalo determinado para asociarse con una supervivencia más prolongada en el análisis de corte de un solo biomarcador; se asignó un valor de 0 si el nivel de biomarcador basal respectivo se categorizó en el intervalo asociado con una supervivencia más corta. La suma de los valores individuales (0 frente a 1 para cada uno de los 2 biomarcadores) se calculó como CBS para cada sujeto (intervalo 0-2). Después, los pacientes se dicotomizaron por CBS como grupos bajo y alto (0 frente a 1-2 y 0-1 frente a 2). Las asociaciones entre los grupos y la OS se exploraron mediante regresión de Cox univariable y la prueba de rango logarítmico con cada uno de los puntos de dicotomización seleccionados en cada rama de tratamiento. Los valores P de la interacción se estimaron mediante un análisis de regresión de Cox multivariable con la rama de tratamiento, el nivel basal y la OS.

Hubo una diferencia significativa en la OS entre los grupos de CBS baja y alta en las ramas LEN/EVE y EVE (figura 4). En la rama LEN/EVE, la OS fue más prolongada en pacientes con una puntuación CBS alta (1-2) que en pacientes con una puntuación CBS baja (0) (mOS: 32,1 meses para CBS alta y 11,9 meses para CBS baja, HR = 0,213, valor p < 0,0001). En la rama EVE, la OS fue más prolongada en pacientes con una puntuación CBS alta (1-2) que en pacientes con una puntuación CBS baja (0) (mOS: 17,5 para CBS alta y 11,4 meses para CBS baja, HR = 0,461, valor P = 0,0294). En los pacientes con una puntuación CBS alta (1-2), la OS fue más prolongada en la rama LEN/EVE que en la rama EVE (mOS: 32,1 meses en LEN/EVE y 17,5 meses en EVE, HR: 0,504, valor p: 0,0359, tabla 11).

El análisis de regresión multivariable de Cox no mostró ninguna interacción significativa entre la OS con LEN+EVE frente al grupo EVE y CBS ($p = 0,2125$).

[Tabla 11]

5

Tabla 11: Mediana de OS en las ramas LEN+EVE y EVE por categoría CBS baja (0) y alta (1-2)

	CBS baja (0)			CBS alta (1-2)		
	LEN/EVE	EVE	valor P	LEN/EVE	EVE	valor P
	(N=13)	(N=15)		(N=35)	(N=29)	
mOS	11,9 meses	11,4 meses	0,8945	32,1 meses	17,5 meses	0,0359

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para predecir la respuesta de un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus, comprendiendo el

en el que preferentemente el nivel de expresión basal de la al menos una proteína se determina midiendo la cantidad de la al menos una proteína en la muestra biológica o el nivel de expresión basal de la al menos una proteína se determina midiendo la cantidad de ARNm que codifica la al menos una proteína en la muestra biológica,

en el que un nivel de expresión basal más bajo de la proteína, en comparación con un nivel de expresión de control, de la al menos una proteína es predictivo de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus,

en el que el nivel de expresión de control es un nivel de expresión en una muestra biológica obtenida de un sujeto que no responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus, y

en el que la muestra biológica es una muestra de sangre, preferentemente una muestra de suero o una muestra de plasma.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el carcinoma de células renales es un carcinoma de células renales avanzado o un carcinoma de células renales metastásico.

3. Un procedimiento para predecir la respuesta de un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus, comprendiendo el procedimiento las etapas siguientes:

medir o haber medido los niveles de expresión basales de al menos cinco proteínas en una muestra biológica obtenida del sujeto humano,

en el que preferentemente el nivel de expresión basal de las al menos cinco proteínas se determina midiendo la cantidad de cada una de las cinco proteínas en la muestra biológica o el nivel de expresión basal de las al menos cinco proteínas se determina midiendo la cantidad de ARNm que codifica cada una de las al menos cinco proteínas en la muestra biológica;

determinar una puntuación para cada proteína basándose en su nivel de expresión basal;

sumar las puntuaciones para obtener una puntuación de biomarcador compuesto; y

determinar que el sujeto humano responde a la politerapia basándose en la puntuación de biomarcador compuesto;

en el que las al menos cinco proteínas comprenden

(i) HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2; o

(ii) TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF; y

en el que

(a) la puntuación para cada proteína es mayor si el nivel de expresión basal se encuentra dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico en respuesta a la politerapia, y la puntuación de biomarcador compuesto igual o superior a una puntuación de biomarcador compuesto de control es predictiva de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus;

o

(b) la puntuación para cada proteína es menor si el nivel de expresión basal se encuentra dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico en respuesta a la politerapia, y la puntuación de biomarcador compuesto igual o inferior a una puntuación de biomarcador compuesto de control es predictiva de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus,

en el que la puntuación de biomarcador compuesto de control es una puntuación de biomarcador compuesto de una muestra biológica obtenida de un sujeto que no responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus, y

5 en el que la muestra biológica es una muestra de sangre, preferentemente una muestra de suero o una muestra de plasma.

4. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que la puntuación de biomarcador compuesto de control es un valor de corte predeterminado.

10 5. El procedimiento de la reivindicación 3 o 4, en el que la puntuación de cada proteína es un valor binario basado en el nivel de expresión basal para cada una de las proteínas.

15 6. El procedimiento de la reivindicación 5, en el que el valor binario es 0 o 1.

7. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en el que el mejor resultado terapéutico es una supervivencia general más prolongada o una supervivencia libre de progresión más prolongada.

20 8. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, en el que el carcinoma de células renales es un carcinoma de células renales avanzado o un carcinoma de células renales metastásico.

9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, en el que las al menos cinco proteínas consisten en HGF, MIG, IL-18BP, IL-18 y ANG-2.

25 10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, en el que las al menos cinco proteínas consisten en TIMP-1, M-CSF, IL-18BP, ANG-2 y VEGF-A.

11. Un procedimiento para predecir la respuesta de un sujeto humano que tiene, se sospecha que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un carcinoma de células renales a una politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus, comprendiendo el procedimiento las etapas siguientes:

medir o haber medido los niveles de expresión basales de al menos dos proteínas que comprenden IL-18BP y ANG-2 en una muestra biológica obtenida del sujeto humano,

35 en el que preferentemente el nivel de expresión basal de cada una de las proteínas se determina midiendo la cantidad de cada una de las proteínas en la muestra biológica o el nivel de expresión basal de cada una de las proteínas se determina midiendo la cantidad de ARNm que codifica cada una de las proteínas en la muestra biológica;

determinar o haber determinado una puntuación para cada proteína basándose en su nivel de expresión basal;

sumar o haber sumado las puntuaciones para obtener una puntuación de biomarcador compuesto; y

45 en el que

(a) la puntuación para cada proteína es mayor si el nivel de expresión basal se encuentra dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico en respuesta a la politerapia, y la puntuación de biomarcador compuesto igual o superior a una puntuación de biomarcador compuesto de control es predictiva de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus; o

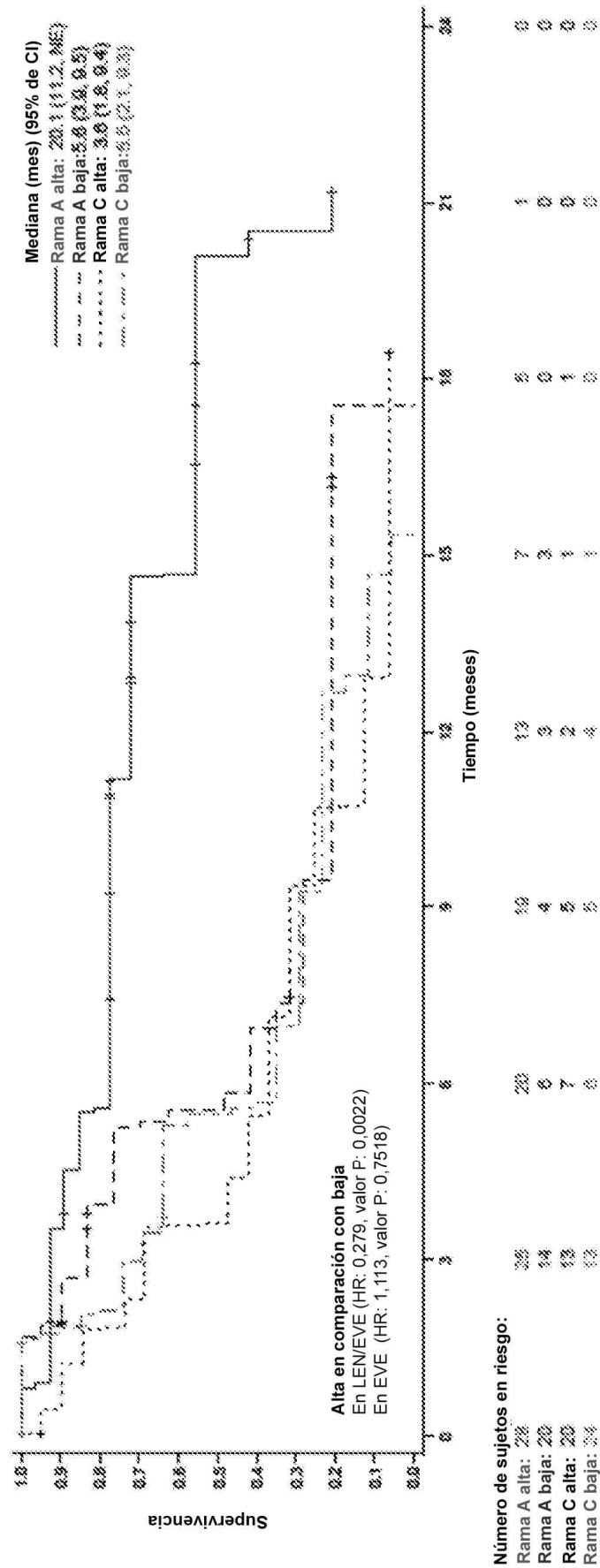
55 (b) la puntuación para cada proteína es menor si el nivel de expresión basal se encuentra dentro de un intervalo de valores que se correlaciona con una población de sujetos humanos con un mejor resultado terapéutico en respuesta a la politerapia, y la puntuación de biomarcador compuesto igual o inferior a una puntuación de biomarcador compuesto de control es predictiva de que el sujeto humano responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus,

60 en el que la puntuación de biomarcador compuesto de control es una puntuación de biomarcador compuesto de una muestra biológica obtenida de un sujeto que no responde a la politerapia que comprende lenvatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente mesilato de lenvatinib y everolimus, y

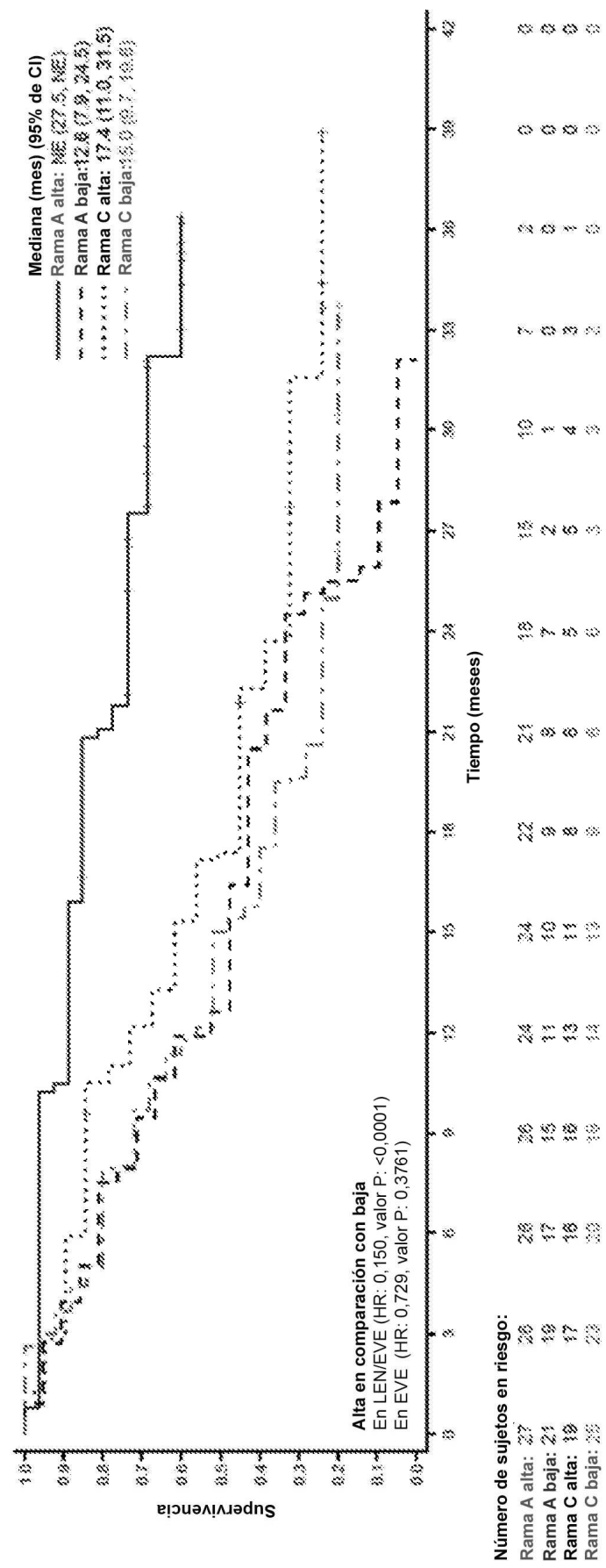
65 en el que la muestra biológica es una muestra de sangre, preferentemente una muestra de suero o una muestra de plasma.

12. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que la puntuación de biomarcador compuesto de control es un valor de corte predeterminado.
- 5 13. El procedimiento de la reivindicación 11 o 12, en el que la puntuación de cada proteína es un valor binario basado en el nivel de expresión basal para cada una de las proteínas.
14. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el valor binario es 0 o 1.
- 10 15. El procedimiento de la reivindicación 13 o 14, en el que el mejor resultado terapéutico es una supervivencia general más prolongada o una supervivencia libre de progresión más prolongada.
16. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 15, en el que el carcinoma de células renales es un carcinoma de células renales avanzado o un carcinoma de células renales metastásico.
- 15 17. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 16, en el que las al menos dos proteínas consisten en IL-18BP y ANG-2.

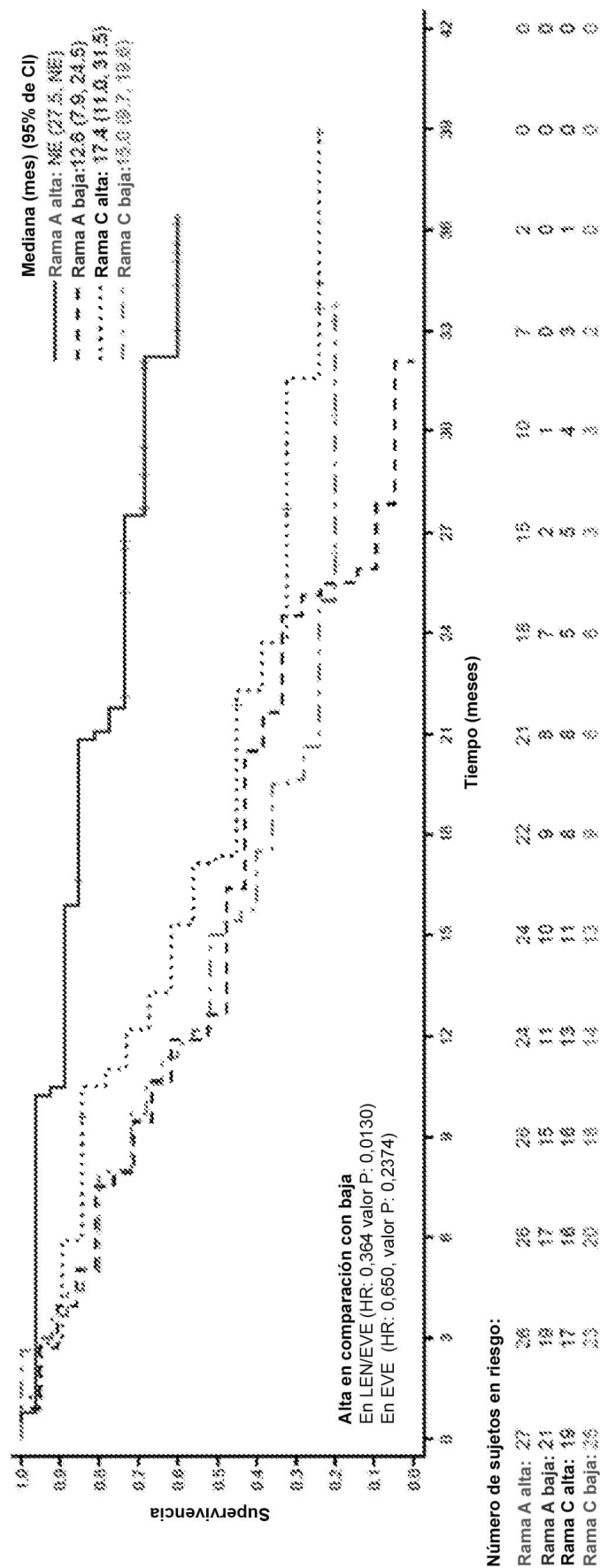
[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]

