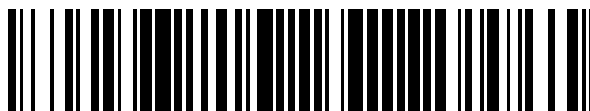


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 891 577**

51 Int. Cl.:

A61K 35/768 (2015.01)

A61K 31/175 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2017 PCT/US2017/023148**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.09.2017 WO17165266**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2017 E 17770887 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.09.2021 EP 3432901**

54 Título: **Tratamiento contra el cáncer secuencial**

30 Prioridad:

21.03.2016 US 201662310874 P

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

28.01.2022

73 Titular/es:

**DUKE UNIVERSITY (100.0%)
2812 Erwin Road Suite 1200 Box 90083
Durham, North Carolina 27705, US**

72 Inventor/es:

**BIGNER, DARELL D.;
GROMEIER, MATTHIAS;
DESJARDINS, ANNICK;
FRIEDMAN, HENRY S.;
FRIEDMAN, ALLAN H. y
SAMPSON, JOHN H.**

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 891 577 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

Tratamiento contra el cáncer secuencial

5 SECTOR TÉCNICO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al área de la terapia antitumoral. En particular, se refiere a la terapia antitumoral con virus oncolíticos.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

El PVS-RIPO es un poliovirus (PV) oncolítico recombinante. Consiste en la vacuna de PV vivo atenuado tipo 1 (Sabin) que contiene un sitio de entrada ribosómico interno extraño (IRES, *internal ribosomal entry site*) del rinovirus humano tipo 2 (HRV2, *human rhinovirus type 2*). El IRES es un elemento genético que actúa en cis ubicado en la región no traducida 5' del genoma del PV, que media la traducción viral independiente de m⁷G-cap. El virus ha mostrado signos interesantes de eficacia en humanos. No obstante, existe una necesidad continua en la técnica de identificar y desarrollar tratamientos contra el cáncer que sean más efectivos y que sean efectivos para más seres humanos, particularmente para pacientes con tumores cerebrales.

20 CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

Según un aspecto, la presente invención da a conocer una construcción de poliovirus quimérico que comprende una cepa de poliovirus Sabin tipo I con un sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de rinovirus humano 2 (HRV2) en dicha región no traducida 5' del poliovirus entre dicha estructura de hoja de trébol del poliovirus y dicho marco de lectura abierto del poliovirus y un agente quimioterapéutico productor de linfopenia, para su utilización en el tratamiento de un tumor en un paciente, en el que el agente quimioterapéutico productor de linfopenia se administra al paciente cuando el crecimiento del tumor progresa después de que se administre la construcción de poliovirus quimérico.

Según otro aspecto, la presente invención da a conocer una construcción de poliovirus quimérico que comprende una cepa de poliovirus Sabin tipo I con un sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de rinovirus humano 2 (HRV2) en dicha región no traducida 5' del poliovirus entre dicha estructura de hoja de trébol del poliovirus y dicho marco de lectura abierto del poliovirus, para su utilización en el tratamiento de un tumor antes del tratamiento con un agente quimioterapéutico productor de linfopenia cuando el tumor progresa después del tratamiento con la construcción de poliovirus quimérico.

También se da a conocer, como un aspecto adicional de la presente invención, un agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización en el tratamiento de un tumor posterior al tratamiento con una construcción de poliovirus quimérico que comprende una cepa de poliovirus Sabin tipo I con un sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de rinovirus humano 2 (HRV2) en dicha región no traducida 5' del poliovirus entre dicha estructura de hoja de trébol del poliovirus y dicho marco de lectura abierto del poliovirus, en el que el agente quimioterapéutico productor de linfopenia se utiliza cuando el tumor progresa después del tratamiento con la construcción de poliovirus quimérico.

Estos y otros aspectos, que serán evidentes para los expertos en la materia al leer la presente memoria descriptiva, dan a conocer a la técnica nuevos regímenes terapéuticos para tratar el cáncer.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

50 Figura 1 - Escáneres cerebrales del paciente No. 8 en los momentos: preinfusión de PVSRIPO, después del drenaje de la hemorragia, 7 meses después de la infusión de PVSRIPO, en el momento de la primera progresión observada, a los 9 meses, después de 1 ciclo de lomustina (CCNU), a los 24 meses y a los 28 meses.

55 Figura 2 - Paciente No. 17 que muestra la respuesta después de que se añadió Temodar diario al Avastin. Escáneres cerebrales en la situación inicial, a los 3 meses, 5 meses, 10 meses, 12 meses y 14 meses. Se añadió diariamente Temodar (temozolomida) al régimen de Avastin a los 10 meses.

60 Figura 3 - Paciente No. 27 que muestra la respuesta después de la adición diaria de Temodar al Avastin. Escáneres cerebrales en la situación inicial, a los 2 meses, 4 meses, 5 meses y 7 meses. Se añadió Avastin a los 2 meses y Temodar a los 5 meses.

65 Figura 4 - Paciente 21. Respuesta después de que se añadió CCNU (lomustina) al Avastin. Los escáneres cerebrales se muestran en la situación inicial, a 1 mes, 3 meses y 5 meses. El Avastin se inició al mes. A los 3 meses se añadió CCNU.

Figura 5 - Paciente No. 23. Respuesta después de que se añadió CCNU al Avastin. Los escáneres cerebrales se

muestran en la situación inicial, a los 3 meses, 5 meses, 7 meses y 8 meses. El Avastin se inició a los 3 meses. Se añadió CCNU a los 7 meses.

5 Figura 6 - Paciente No. 28. Respuesta después de la adición diaria de Temodar al Avastin. Los escáneres cerebrales se muestran en la situación inicial, a 1 mes, 3 meses y 5 meses. El Avastin se inició a 1 mes. Se añadió Temodar diario a los 3 meses.

10 Figuras 7A-7C - Se trató TRAMP-C2, un modelo de cáncer de próstata de ratón singénico (transducido con el receptor de poliovirus humano, CD155) en ratones transgénicos CD155, tal como se muestra en la figura 7A con PVSRIPO el día 0 y con temozolomida (TMZ) los días 7-13. Este modelo se utiliza de manera común como control negativo para la inmunoterapia contra el cáncer. Se confirma que TRAMP no tiene un solo epítipo antigénico que pueda ser reconocido por el sistema inmunológico. Por lo tanto, nada funciona realmente en este modelo a través de la inmunoterapia. Se cree que esta es la razón por la que PVSRIPO solamente tiene un efecto mínimo en el TRAMP. Se eligió deliberadamente este modelo altamente resistente para probar la sinergia de TMZ con PVSRIPO. La figura 15 7B muestra los resultados porcentuales de supervivencia en un gráfico de Kaplan-Meier. La figura 7C muestra los resultados del tamaño promedio del tumor a lo largo del tiempo.

20 Figura 8 - Los resultados experimentales de la figura 7C se muestran para ratones individuales en las cohortes en la figura 8. Los resultados para el número de ratones individuales con tumores por debajo de 1500 mm³ en el día 25 se tabulan a continuación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

25 Los presentes inventores han desarrollado un procedimiento en el que se aumenta y/o prolonga la eficacia de la construcción de poliovirus quimérico PVSRIPO mediante la administración posterior de un agente quimioterapéutico. Los efectos son sinérgicos. Si bien los presentes solicitantes no desean quedar limitados por ningún mecanismo de acción particular, la eficacia aumentada/prolongada puede deberse a la capacidad de los agentes quimioterapéuticos para agotar los linfocitos. El agotamiento de los linfocitos o producción de linfopenia puede eliminar la competencia en la superficie de las células presentadoras de antígenos, mejorar la disponibilidad de citocinas que aumentan la actividad de las células T, agotar las células T reguladoras, mejorar el cebado y la 30 presentación inmunitarias, mejorar la expresión de antígenos y/o mejorar las dianas para la erradicación inmunitaria.

35 La quimioterapia se administra, preferentemente, mucho después de que se hayan observado los efectos iniciales de la construcción de poliovirus quimérico PVSRIPO. La administración puede ser, como mínimo, a los 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 10 meses, 12, meses, 18 meses o 24 meses después de la administración de PVSRIPO. La quimioterapia se puede administrar de forma continua o en ciclos con intervalos en el tratamiento para permitir, por ejemplo, la recuperación de los linfocitos.

40 Los fármacos quimioterapéuticos adecuados son aquellos productores de linfopenia. Entre estos se incluyen agentes alquilantes clásicos, tales como las mostazas nitrogenadas, entre las que se incluyen ciclofosfamida, mecloretamina o mostina (HN2) (nombre comercial Mustargen), uramustina o mostaza uracilo, melfalan, clorambucilo, ifosfamida y bendamustina. Entre estos también se incluyen las nitrosoureas, tales como carmustina, lomustina y estreptozocina. Entre estos también se incluyen los sulfonatos de alquilo, tales como el busulfano. Los fármacos quimioterapéuticos basados en platino (denominados análogos de platino) actúan de manera similar y se 45 pueden utilizar de manera similar. Estos agentes no tienen un grupo alquilo, pero sin embargo dañan el ADN. Se coordinan permanentemente con el ADN para interferir en la reparación del ADN, por lo que a veces se describen como "de tipo alquilante". Entre estos se incluyen cisplatino, carboplatino, nedaplatino, oxaliplatino, satraplatino y tetranitrato de triplatino. Además, se pueden utilizar agentes alquilantes no clásicos, entre los que se incluyen, sin limitación a los mismos, procarbazona, alretamina, triazenos, tales como dacarbazina, mitozolomida y temozolomida. 50

55 Se puede utilizar cualquier técnica para administrar directamente la preparación viral al tumor. La administración directa no depende de la vasculatura sanguínea para acceder al tumor. La preparación puede aplicarse directamente sobre la superficie del tumor, inyectarse en el tumor, instilarse en el sitio del tumor o dentro del mismo durante la cirugía, infundirse en el tumor a través de un catéter, etc. Una técnica particular que se puede utilizar es la administración mejorada por convección.

60 Se puede utilizar quimioterapia metronómica, que se refiere a la administración frecuente de agentes quimioterapéuticos en dosis significativamente por debajo de la dosis máxima tolerada sin descansos prolongados sin fármaco. Por ejemplo, un régimen estándar no metronómico con temozolomida consiste en 150 a 200 mg/m² al día durante 5 días consecutivos repetidos cada 4 semanas. El régimen metronómico puede ser, por ejemplo, una dosis de 50 mg/m²/día al día durante 2 o 3 meses. Se pueden utilizar regímenes de dosis bajas similares con otros agentes quimioterapéuticos. También se pueden utilizar regímenes de dosis bajas con un calendario estándar. También se puede utilizar la terapia de dosis y de calendario estándar.

65 Se puede tratar cualquier tumor humano, entre los que se incluyen tanto los tumores pediátricos como los adultos. El tumor puede estar en cualquier órgano, por ejemplo, cerebro, próstata, mama, pulmón, colon y recto. Pueden

tratarse diversos tipos de tumores, entre los que se incluyen, por ejemplo, glioblastoma, meduloblastomas, carcinoma, adenocarcinoma, etc. Entre otros ejemplos de tumores se incluyen carcinoma corticosuprarrenal, cáncer anal, cáncer de apéndice, astrocitoma de grado I (anaplásico), astrocitoma de grado II, astrocitoma de grado III, astrocitoma de grado IV, tumor teratoide/rabdoide atípico del sistema nervioso central, carcinoma de células basales, 5
cáncer de vejiga, sarcoma de mama, cáncer de bronquios, carcinoma broncoalveolar, cáncer de cuello uterino, craneofaringioma, cáncer de endometrio, cáncer de endometrio uterino, ependimoblastoma, ependimoma, cáncer de esófago, estesioblastoma, sarcoma de Ewing, tumor extracraneal de células germinales, tumor extragonadal de células germinales, cáncer extrahepático del conducto biliar, histiocitoma fibroso, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal, tumor trofoblástico gestacional, 10
glioma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular, colangiocarcinoma hiliar, cáncer hipofaríngeo, melanoma intraocular, tumor de células de los islotes, sarcoma de Kaposi, histiocitosis de células de Langerhans, carcinoma de pulmón indiferenciado de células grandes, cáncer de laringe, cáncer de labio, adenocarcinoma de pulmón, histiocitoma fibroso maligno, meduloepitelioma, melanoma, carcinoma de células de Merkel, mesotelioma, neoplasia endocrina, cáncer de cavidad nasal, cáncer de nasofaringe, neuroblastoma, cáncer bucal, cáncer de orofaringe, 15
osteosarcoma, carcinoma de células claras de ovario, cáncer epitelial de ovario, tumor de células germinales de ovario, cáncer de páncreas, papilomatosis, cáncer de seno paranasal, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de faringe, tumor del parénquima pineal, pineoblastoma, tumor hipofisario, blastoma pleuropulmonar, cáncer de células renales, cáncer de las vías respiratorias con cambios en el cromosoma 15, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de glándulas salivales, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino 20
delgado, sarcoma de tejidos blandos, carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón de células escamosas no pequeñas, cáncer de cuello escamoso, tumor neuroectodérmico supratentorial primitivo, cáncer de testículo, cáncer de garganta, carcinoma tímico, timoma, cáncer de tiroides, cáncer de pelvis renal, cáncer de uretra, sarcoma uterino, cáncer de vagina, cáncer de vulva y tumor de Wilms.

25 Opcionalmente, los pacientes se pueden estratificar sobre la base de la expresión de NECL5. Esto se puede ensayar a nivel de ARN o proteína, utilizando, por ejemplo, sondas, cebadores o anticuerpos. La expresión de NECL5 puede guiar la decisión de tratar o no tratar con el poliovirus quimérico de la presente invención. La expresión de NECL5 también se puede utilizar para guiar la agresividad del tratamiento, incluida la dosis, la frecuencia y la duración de los tratamientos.

30 Los regímenes de tratamiento pueden incluir, además de la administración de la construcción de poliovirus quimérico, extirpación quirúrgica del tumor, reducción quirúrgica del tumor, quimioterapia, terapia biológica y radioterapia. Estas modalidades son el tratamiento de referencia en muchos estados de la enfermedad y no es necesario negar al paciente el tratamiento de referencia. El poliovirus quimérico se puede administrar antes, durante 35
o después del tratamiento de referencia. El poliovirus quimérico se puede administrar después del fracaso del tratamiento de referencia.

Si bien los presentes solicitantes no desean quedar limitados por ningún mecanismo de acción en particular, se cree que múltiples mecanismos pueden contribuir a la eficacia de PVSRIPO. Estos incluyen la lisis de las células cancerosas, el reclutamiento de células inmunitarias y la especificidad por las células cancerosas. Además, el virus está atenuado neurológicamente. El mecanismo de mejora/prolongación por un agente de quimioterapia también puede ser multifactorial.

40 La divulgación anterior describe de manera general la presente invención. Se puede obtener una comprensión más completa haciendo referencia a los siguientes ejemplos específicos, que se proporcionan en la presente memoria descriptiva únicamente con fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

EJEMPLO

50 A partir del 23 de febrero de 2016, de los 20 pacientes tratados con 5×10^7 TCID₅₀ de PVSRIPO, cinco pacientes tenían imágenes relacionadas con la progresión de la enfermedad, así como el deterioro clínico, después de la infusión de PVSRIPO a pesar de estar tomando bevacizumab para ayudar a controlar la inflamación cerebral. Tres pacientes continuaron con bevacizumab y se iniciaron con temozolomida metronómica diaria a 50 mg/m²/día, con el objetivo de tratar el tumor y ayudar a controlar la inflamación cerebral. Dos pacientes tuvieron una mejoría 55
significativa en las imágenes en el primer seguimiento de la MRI y una mejoría clínicamente significativa en su estado funcional. El tercer paciente tuvo una leve mejoría en las imágenes, pero no mejoró clínicamente y, de este modo, el paciente eligió continuar con los cuidados paliativos y ahora ha fallecido. Para dos de los cinco pacientes, se añadió lomustina al bevacizumab. Ambos pacientes mostraron una mejoría clínica y de imagen significativa después de las primeras seis semanas de terapia (un ciclo de lomustina), lo cual es inusual para la lomustina. Sin embargo, un paciente decidió meses después suspender la lomustina y ahora ha fallecido. Tres de los cinco 60
pacientes siguen vivos, dos con temozolomida metronómica diaria y bevacizumab y uno con lomustina y bevacizumab, continúan con la terapia y están bien.

65 Un paciente tratado con $1,0 \times 10^{10}$ TCID₅₀ de PVSRIPO experimentó una toxicidad limitante de la dosis debido a una hemorragia intracerebral en el momento de la extracción del catéter. Se drenó la hemorragia, así como posiblemente una cantidad significativa de PVSRIPO. El paciente demostró progresión de la enfermedad en las imágenes,

confirmado como glioblastoma recurrente (grado IV de la OMS) por biopsia, 7 meses después de la infusión de PVSRIPO. A continuación, el paciente inició el tratamiento con lomustina y demostró una respuesta clínica y de imagen significativa después de un ciclo de lomustina. El paciente completó nueve ciclos de lomustina hace 10 meses y permanece sin enfermedad (desaparición completa del tumor) más de 32 meses después de la infusión de PVSRIPO. Hay que destacar que se cree que el paciente recibió menos de la dosis planeada de PVSRIPO (1,0 X 10¹⁰ TCID₅₀) dada la necesidad de drenar la hemorragia, además el paciente nunca recibió bevacizumab con la lomustina, dada la preocupación por una hemorragia cerebral repetida.

Referencias

10 1. Castriconi R, A Daga, A Dondero, G Zona, PL Poliani, et al. 2009. NK cells recognize and kill human glioblastoma cells with stem cell-like properties. *J Immunol* 182:3530-39.

15 2. de Breyne S, Y Yu, A Unbehaun, TV Pestova, CU Hellen. 2009. Direct functional interaction of initiation factor eIF4G with type 1 internal ribosomal entry sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:9197-202.

20 3. Dobrikova EY, T Broadt, J Poiley-Nelson, X Yang, G Soman, et al. 2008. Recombinant oncolytic poliovirus eliminates glioma in vivo without genetic adaptation to a pathogenic phenotype. *Mol Ther* 16:1865-72.

25 4. Dobrikova EY, C Goetz, RW Walters, SK Lawson, JO Peggins, et al. 2012. Attenuation of neurovirulence, biodistribution, and shedding of a poliovirus:rhinovirus chimera after intrathalamic inoculation in *Macaca fascicularis*. *J Virol* 86:2750-9.

5 5. Erickson BM, NL Thompson, DC Hixson. 2006. Tightly regulated induction of the adhesion molecule necl-5/CD155 during rat liver regeneration and acute liver injury. *Hepatology* 43:325-34.

6. Goetz C, E Dobrikova, M Shveygert, M Dobrikov, M Gromeier. 2011. Oncolytic poliovirus against malignant glioma. *Future Virol* 6:1045-58.

30 7. Goetz, C, RG Everson, L Zhang, M Gromeier. 2010. MAPK signal-integrating kinase controls cap-independent translation and cell type-specific cytotoxicity of an oncolytic poliovirus. *Mol Ther* 18:1937-46.

35 8. Gromeier M, L Alexander, E Wimmer. 1996. Internal ribosomal entry site substitution eliminates neurovirulence in intergeneric poliovirus recombinants. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:2370-5.

9. Gromeier M, B Bossert, M Arita, A Nomoto, E Wimmer. 1999. Dual stem loops within the poliovirus internal ribosomal entry site control neurovirulence. *J Virol* 73:958-64.

40 10. Gromeier M, S Lachmann, MR Rosenfeld, PH Gutin, E Wimmer. 2000. Intergeneric poliovirus recombinants for the treatment of malignant glioma. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:6803-8.

45 11. Gromeier M, D Solecki, DD Patel, E Wimmer. 2000. Expression of the human poliovirus receptor/CD155 gene during development of the central nervous system: implications for the pathogenesis of poliomyelitis. *Virology* 273:248-57.

50 12. Iwasaki A, R Welker, S Mueller, M Linehan, A Nomoto, et al. 2002. Immunofluorescence analysis of poliovirus receptor expression in Peyer's patches of humans, primates, and CD155 transgenic mice: implications for poliovirus infection. *J Infect Dis* 186:585-92.

55 13. Joshi S, S Kaur, AJ Redig, K Goldsborough, K David, et al. 2009. Type IIFN-dependent activation of Mnk1 and its role in the generation of growth inhibitory responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:12097-102.

14. Masson D, A Jarry, B Baury, P Blanchardie, C Laboisie, et al. 2001. Overexpression of the CD155 gene in human colorectal carcinoma. *Gut* 49:236-40.

60 15. Merrill MK, G Bernhardt, JH Sampson, CJ Wikstrand, DD Bigner, et al. 2004. Poliovirus receptor CD155-targeted oncolysis of glioma. *Neuro-oncol* 6:208-17.

16. Merrill MK, EY Dobrikova, M Gromeier. 2006. Cell-type-specific repression of internal ribosome entry site activity by double-stranded RNA-binding protein 76. *J Virol* 80:3147-56.

17. Merrill MK, M Gromeier. 2006. The double-stranded RNA binding protein 76:NF45 heterodimer inhibits translation initiation at the rhinovirus type 2 internal ribosome entry site. *J Virol* 80:6936-42.

65 18. Nakai R, Y Maniwa, Y Tanaka, W Nishio, M Yoshimura, et al. 2010. Overexpression of Necl-5 correlates with unfavorable prognosis in patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Sci* 101:1326-30.

19. Neplioueva V, EY Dobrikova, N Mukherjee, JD Keene, M Gromeier. 2010. Tissue type-specific expression of the DRBP76 and genome-wide elucidation of its target mRNAs. *PLoS One* 5: e11710.
- 5 20. Ochiai H, SA Campbell, GE Archer, TA Chewning, E Dragunsky, et al. 2006. Targeted therapy for glioblastoma multiforme neoplastic meningitis with intrathecal delivery of an oncolytic recombinant poliovirus. *Clin Can Res* 12:1349-54.
- 10 21. Ochiai H, SA Moore, GE Archer, T Okamura, TA Chewning, et al. 2004. Treatment of intracerebral neoplasia and neoplastic meningitis with regional delivery of oncolytic recombinant poliovirus. *Clin Can Res* 10:4831-8.
22. Takai Y, J Miyoshi, W Ikeda, H Ogita. 2008. Nectins and nectin-like molecules: roles in contact inhibition of cell movement and proliferation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9:603-15.
- 15 23. Toyoda H, J Yin, S Mueller, E Wimmer, J Cello. 2007. Oncolytic treatment and cure of neuroblastoma by a novel attenuated poliovirus in a novel poliovirus-susceptible animal model. *Cancer Res* 67:2857-64.
- 20 24. Wahid R, MJ Cannon, M Chow. 2005. Dendritic cells and macrophages are productively infected by poliovirus. *J Virol* 79:401-9.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Construcción de poliovirus quimérico que comprende una cepa Sabin tipo I de poliovirus con un sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de rinovirus humano 2 (HRV2) en dicha región no traducida 5' del poliovirus entre dicha estructura de hoja de trébol del poliovirus y dicho marco de lectura abierto de poliovirus, y agente quimioterapéutico productor de linfopenia, para su utilización en el tratamiento de un tumor en un paciente, en el que el agente quimioterapéutico productor de linfopenia se administra al paciente cuando el crecimiento del tumor progresa después de que se administre la construcción de poliovirus quimérico.
- 10 2. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que el agente quimioterapéutico productor de linfopenia causa linfopenia transitoria.
- 15 3. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que:
- (1) el agente quimioterapéutico productor de linfopenia es un agente alquilante;
- (2) el agente quimioterapéutico productor de linfopenia es la lomustina; o
- 20 (3) el agente quimioterapéutico productor de linfopenia es la temozolomida.
4. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que el agente quimioterapéutico productor de linfopenia se administra de acuerdo con un programa metronómico en el que, preferentemente, el agente quimioterapéutico es temozolomida.
- 25 5. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que:
- (1) el agente quimioterapéutico productor de linfopenia se administra, como mínimo, 2 meses después de la administración de la construcción de poliovirus quimérico;
- 30 (2) el agente quimioterapéutico productor de linfopenia se administra, como mínimo, 3 meses después de la administración de la construcción de poliovirus quimérico; o
- 35 (3) el agente quimioterapéutico productor de linfopenia se administra, como mínimo, 5 meses después de la administración de la construcción de poliovirus quimérico.
- 40 6. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que la progresión del tumor se evalúa mediante toma de imágenes o mediante índices clínicos.
- 45 7. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que el tumor es un tumor cerebral y, preferentemente, es un glioblastoma, un astrocitoma u oligodendroglioma, un astrooligodendroglioma o un meduloblastoma.
- 50 8. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que el tumor se selecciona entre el grupo que consiste en carcinoma de células renales, tumor de próstata, tumor de vejiga, tumor de esófago, tumor de estómago, tumor de páncreas, tumor colorrectal, tumor de hígado o vesícula biliar, tumor de mama, tumor de pulmón, tumor de cabeza y cuello, melanoma y sarcoma.
- 55 9. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que el tumor expresa NECL5 (proteína 5 de tipo nectina).
- 60 10. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 7, en la que la construcción de poliovirus quimérico se administra mediante infusión intracerebral con administración mejorada por convección.
- 65 11. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que antes de la etapa de administrar la construcción de poliovirus, el tumor se prueba para determinar si expresa NECL5.
12. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterapéutico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 1, en la que:
- la construcción de poliovirus quimérico se administra cuando el crecimiento del tumor progresa después del

tratamiento con un agente quimioterápico productor de linfopenia.

5 13. Construcción de poliovirus quimérico que comprende una cepa Sabin tipo I de poliovirus con un sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de rinovirus humano 2 (HRV2) en dicha región no traducida 5' del poliovirus entre dicha estructura de hoja de trébol del poliovirus y dicho marco de lectura abierto del poliovirus, para su utilización en el tratamiento de un tumor antes del tratamiento con un agente quimioterápico productor de linfopenia, cuando el tumor progresa después del tratamiento con la construcción de poliovirus quimérico.

10 14. Agente quimioterápico productor de linfopenia, para su utilización en el tratamiento de un tumor posterior al tratamiento con una construcción de poliovirus quimérico que comprende una cepa de poliovirus Sabin tipo I con un sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de rinovirus humano 2 (HRV2) en dicha región no traducida 5' del poliovirus entre dicha estructura de hoja de trébol del poliovirus y dicho marco de lectura abierto del poliovirus, en la que el agente quimioterápico productor de linfopenia se utiliza cuando el tumor progresa después del tratamiento con la construcción de poliovirus quimérico.

15 15. Construcción de poliovirus quimérico y agente quimioterápico productor de linfopenia para su utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, construcción de poliovirus quimérico para su utilización, según la reivindicación 13, o agente quimioterápico productor de linfopenia para su utilización, según la reivindicación 14, en la que la construcción de poliovirus quimérico es PVSRIPO.

20

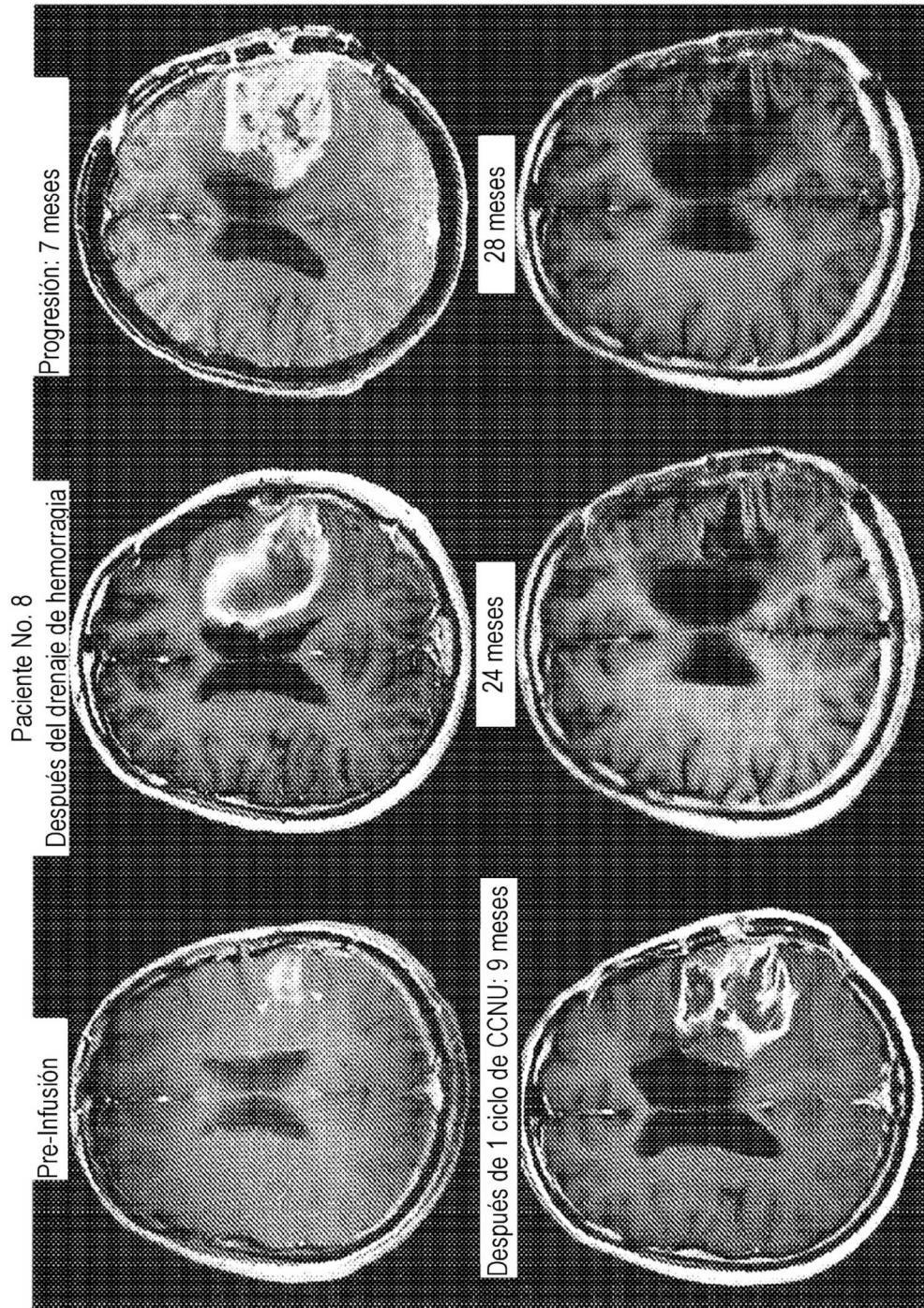


Fig. 1

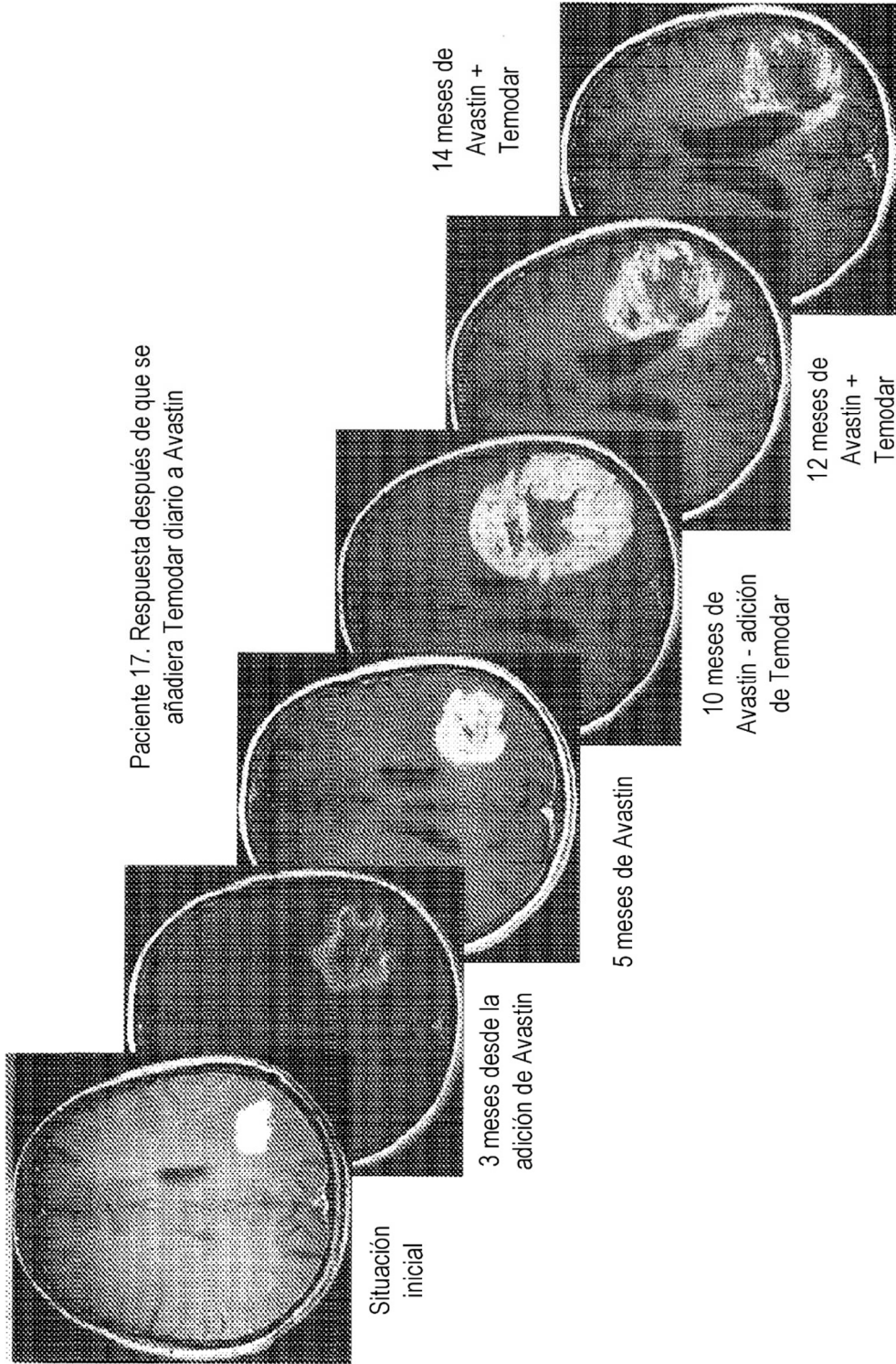


Fig. 2

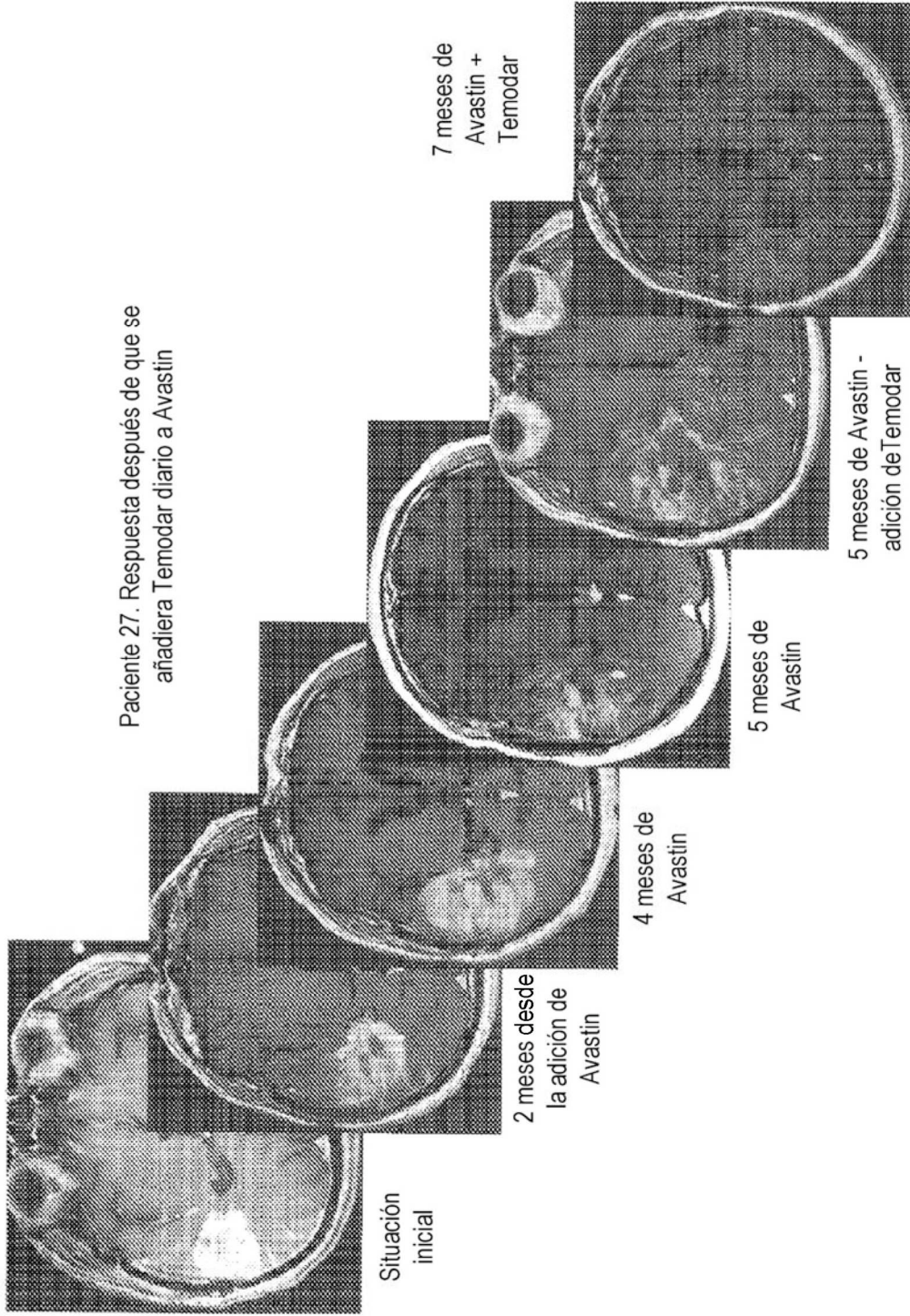


Fig. 3

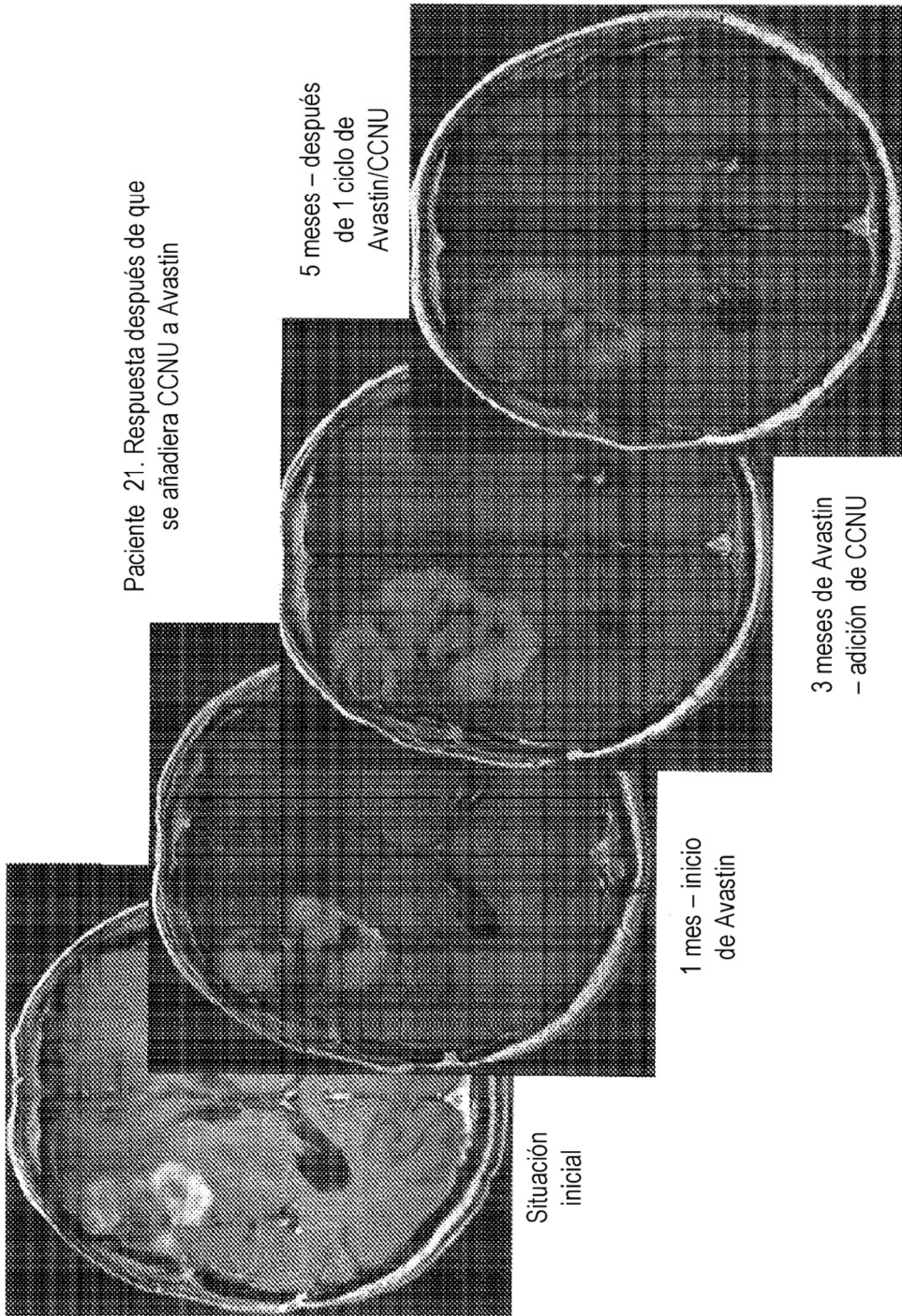


Fig. 4

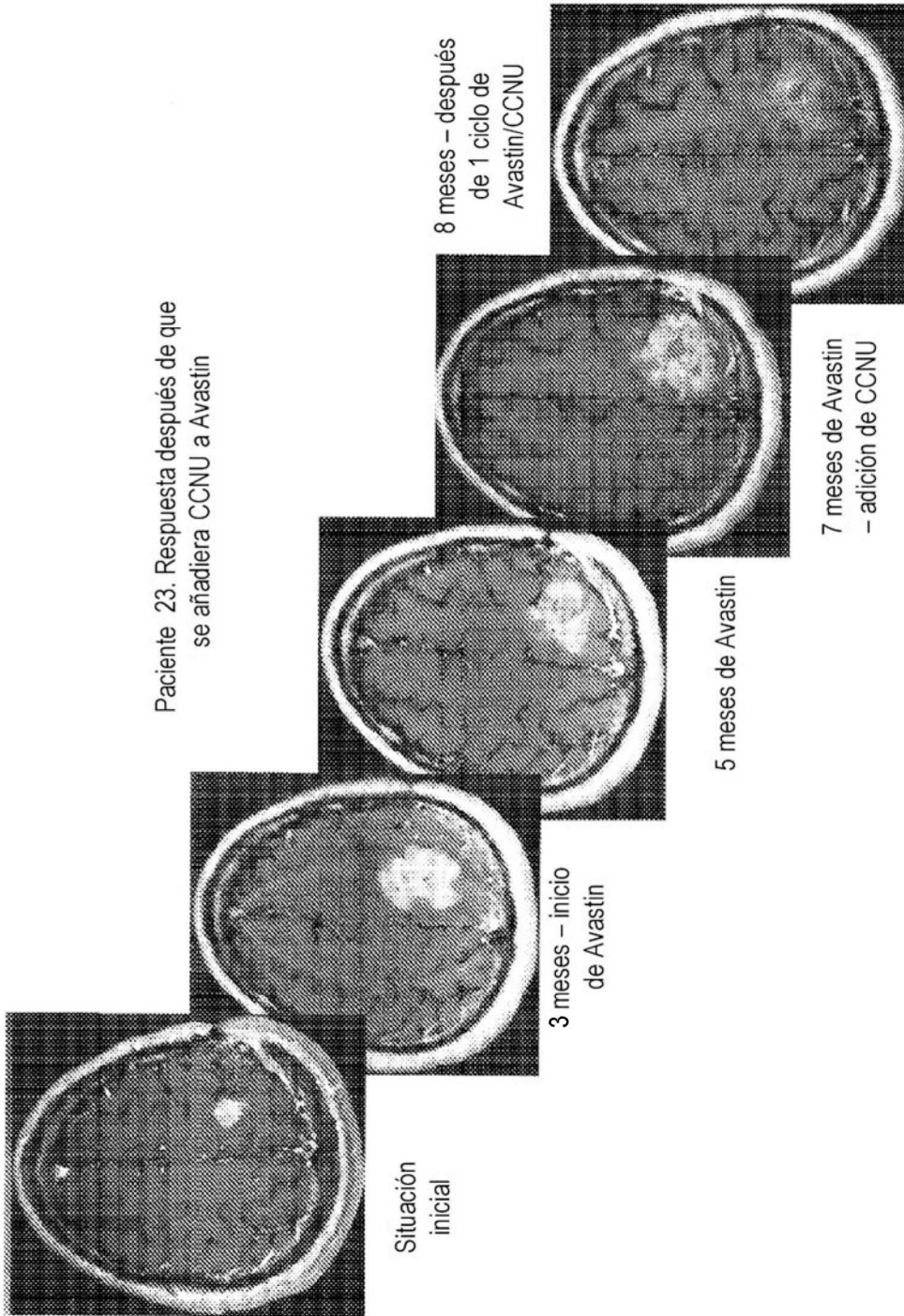


Fig. 5

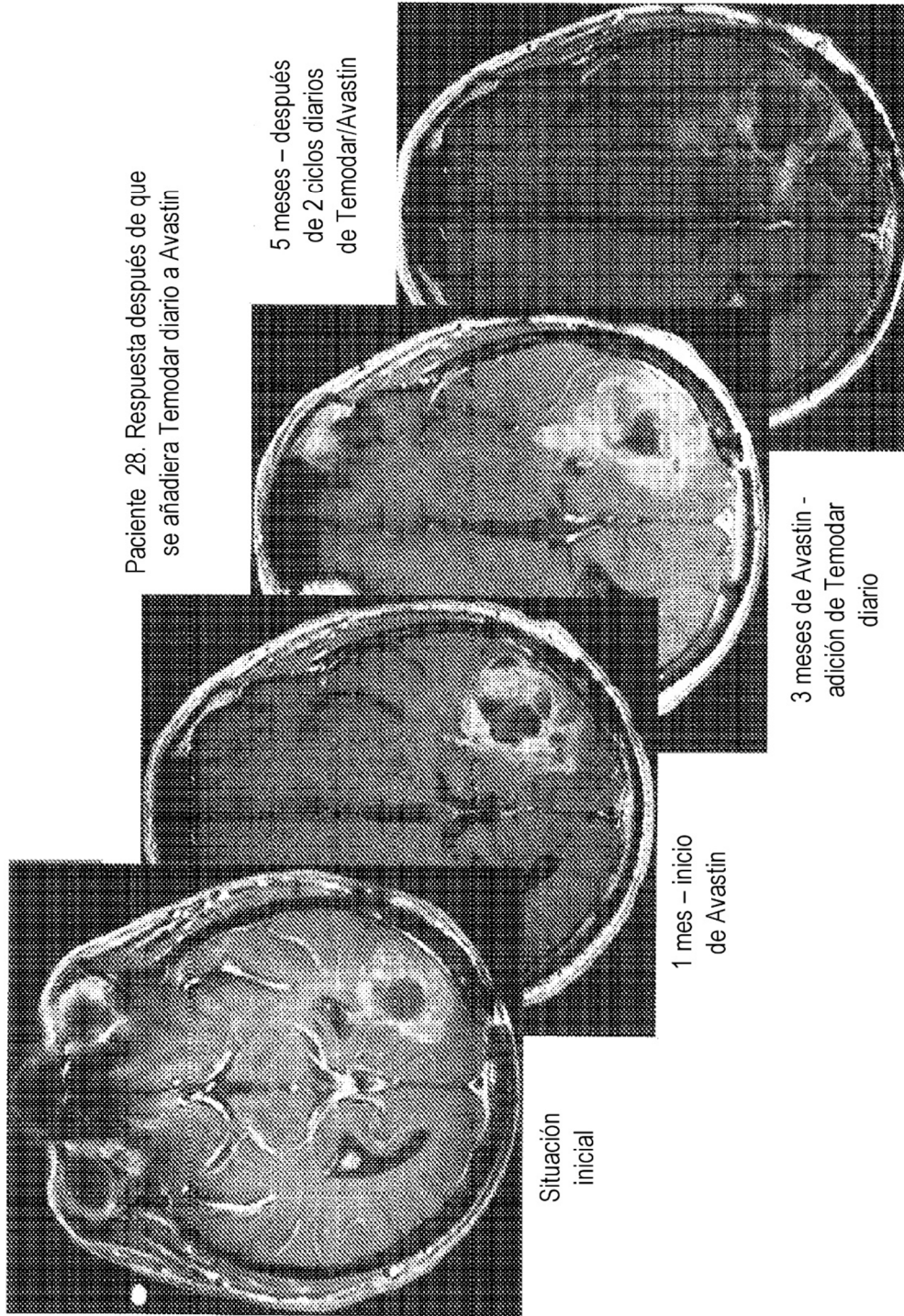


Fig. 6

Fig. 7A-7C
Experimento de combinación TRAMPC2 PVSRIPO TMZ

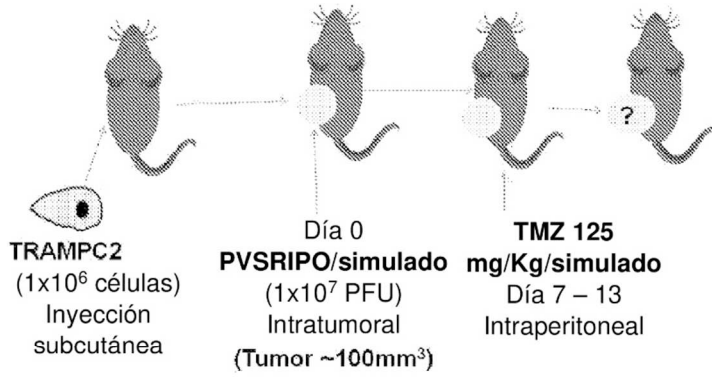


Fig. 7A

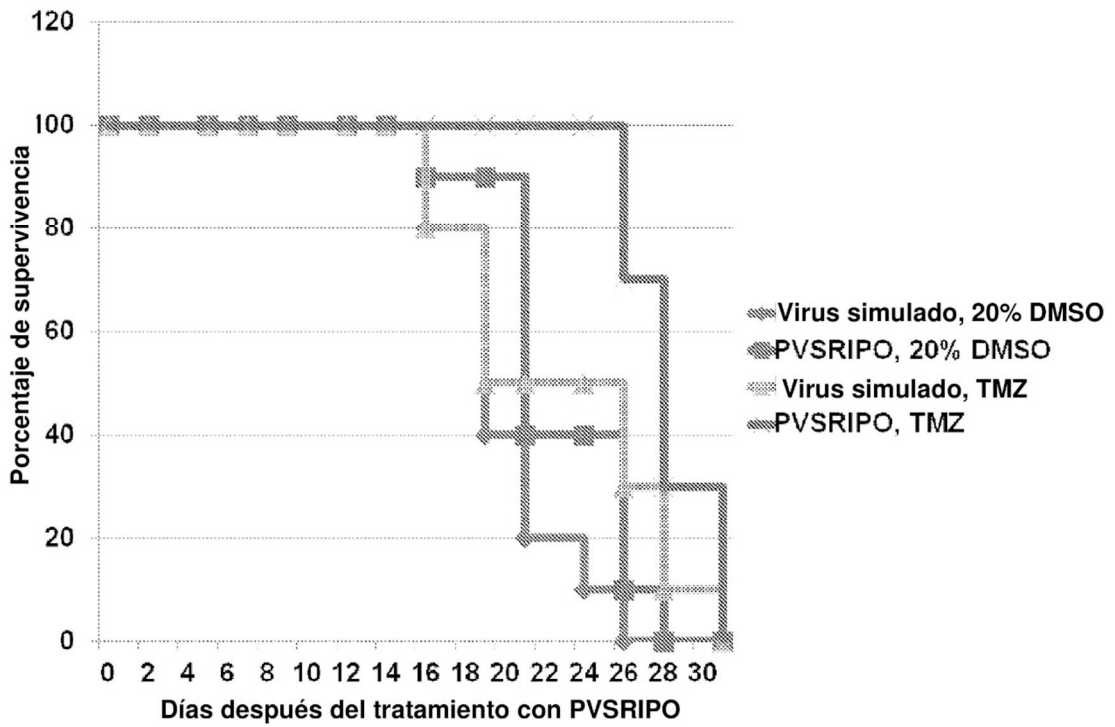


Fig. 7B

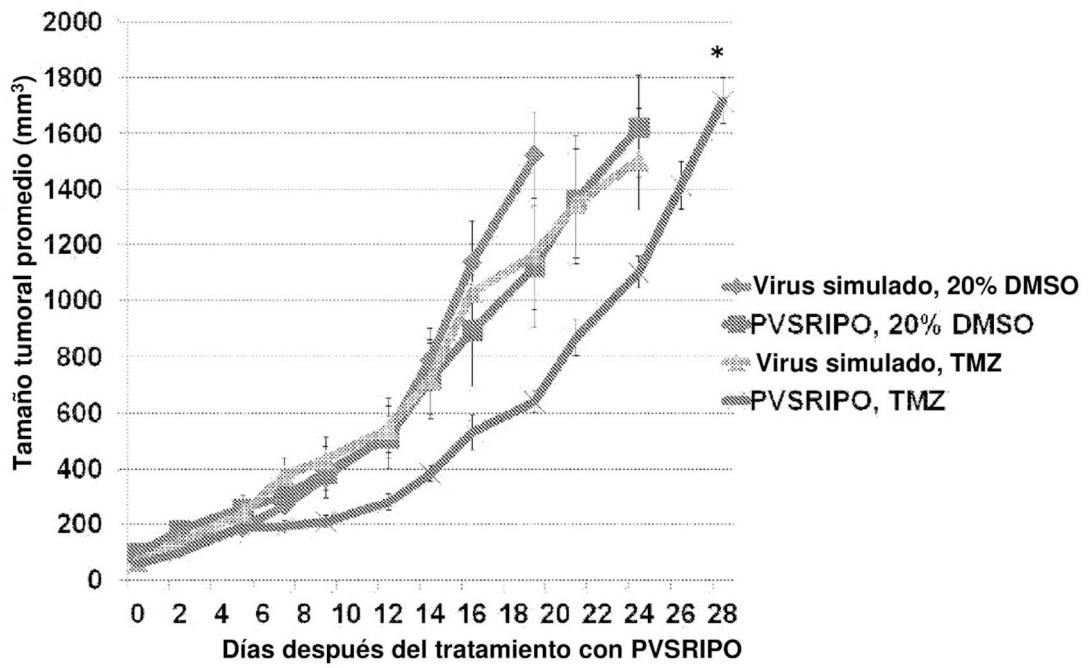
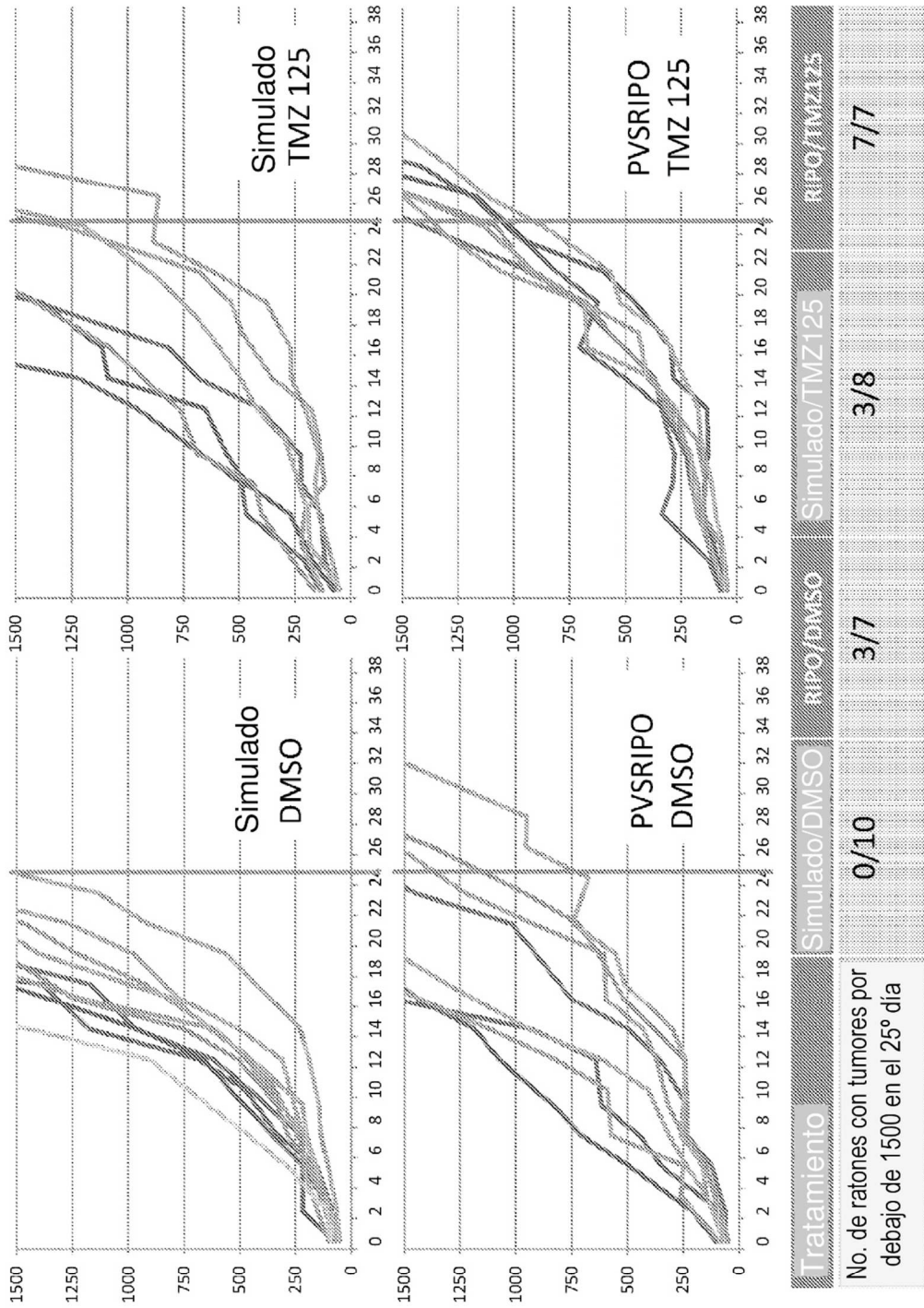


Fig. 7C

Fig. 8. Experimento de combinación TRAMPC2 PVSRIP0 TMZ



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.

Literatura no patente citada en la descripción

- **CASTRICONI R ; A DAGA ; A DONDERO ; G ZONA ; PL POLIANI et al.** NK cells recognize and kill human glioblastoma cells with stem cell-like properties. *J Immunol*, 2009, vol. 182, 3530-39
- **DE BREYNE S ; Y YU ; A UNBEHAUN ; TV PESTOVA ; CU HELLEN.** Direct functional interaction of initiation factor eIF4G with type 1 internal ribosomal entry sites. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, vol. 106, 9197-202
- **DOBRIKOVA EY ; T BROADT ; J POILEY-NELSON ; X YANG ; G SOMAN et al.** Recombinant oncolytic poliovirus eliminates glioma in vivo without genetic adaptation to a pathogenic phenotype. *Mol Ther*, 2008, vol. 16, 1865-72
- **DOBRIKOVA EY ; C GOETZ ; RW WALTERS ; SK LAWSON ; JO PEGGINS et al.** Attenuation of neurovirulence, biodistribution, and shedding of a poliovirus:rhinovirus chimera after intrathalamic inoculation in *Macaca fascicularis*. *J Virol*, 2012, vol. 86, 2750-9
- **ERICKSON BM ; NL THOMPSON ; DC HIXSON.** Tightly regulated induction of the adhesion molecule necl-5/CD155 during rat liver regeneration and acute liver injury. *Hepatology*, 2006, vol. 43, 325-34
- **GOETZ C ; E DOBRIKOVA ; M SHVEYBERT ; M DOBRIKOV ; M GROMEIER.** Oncolytic poliovirus against malignant glioma. *Future Virol*, 2011, vol. 6, 1045-58
- **GOETZ, C ; RG EVERSON ; L ZHANG ; M GROMEIER.** MAPK signal-integrating kinase controls cap-independent translation and cell type-specific cytotoxicity of an oncolytic poliovirus. *Mol Ther*, 2010, vol. 18, 1937-46
- **GROMEIER M ; L ALEXANDER ; E WIMMER.** Internal ribosomal entry site substitution eliminates neurovirulence in intergeneric poliovirus recombinants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, vol. 93, 2370-5
- **GROMEIER M ; B BOSSERT ; M ARITA ; A NOMOTO ; E WIMMER.** Dual stem loops within the poliovirus internal ribosomal entry site control neurovirulence. *J Virol*, 1999, vol. 73, 958-64
- **GROMEIER M ; S LACHMANN ; MR ROSENFELD ; PH GUTIN ; E WIMMER.** Intergeneric poliovirus recombinants for the treatment of malignant glioma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, vol. 97, 6803-8
- **GROMEIER M ; D SOLECKI ; DD PATEL ; E WIMMER.** Expression of the human poliovirus receptor/CD155 gene during development of the central nervous system: implications for the pathogenesis of poliomyelitis. *Virology*, 2000, vol. 273, 248-57
- **IWASAKI A ; R WELKER ; S MUELLER ; M LINEHAN ; A NOMOTO et al.** Immunofluorescence analysis of poliovirus receptor expression in Peyer's patches of humans, primates, and CD155 transgenic mice: implications for poliovirus infection. *J Infect Dis*, 2002, vol. 186, 585-92
- **JOSHI S ; S KAUR ; AJ REDIG ; K GOLDSBOROUGH ; K DAVID et al.** Type IIFN-dependent activation of Mnk1 and its role in the generation of growth inhibitory responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, vol. 106, 12097-102
- **MASSON D ; A JARRY ; B BAURY ; P BLANCHARDIE ; C LABOISSE et al.** Overexpression of the CD155 gene in human colorectal carcinoma. *Gut*, 2001, vol. 49, 236-40
- **MERRILL MK ; G BERNHARDT ; JH SAMPSON ; CJ WIKSTRAND ; DD BIGNER et al.** Poliovirus receptor CD155-targeted oncolysis of glioma. *Neuro-oncol*, 2004, vol. 6, 208-17
- **MERRILL MK ; EY DOBRIKOVA ; M GROMEIER.** Cell-type-specific repression of internal ribosome entry site activity by double-stranded RNA-binding protein 76. *J Virol*, 2006, vol. 80, 3147-56
- **MERRILL MK ; M GROMEIER.** The double-stranded RNA binding protein 76:NF45 heterodimer inhibits translation initiation at the rhinovirus type 2 internal ribosome entry site. *J Virol*, 2006, vol. 80, 6936-42
- **NAKAI R ; Y MANIWA ; Y TANAKA ; W NISHIO ; M YOSHIMURA et al.** Overexpression of Necl-5 correlates with unfavorable prognosis in patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Sci*, 2010, vol. 101, 1326-30
- **NEPLIOUEVA V ; EY DOBRIKOVA ; N MUKHERJEE ; JD KEENE ; M GROMEIER.** Tissue type-specific expression of the DRBP76 and genome-wide elucidation of its target mRNAs. *PLoS One*, 2010, vol. 5, e11710
- **OCHIAI H ; SA CAMPBELL ; GE ARCHER ; TA CHEWNING ; E DRAGUNSKY et al.** Targeted therapy for glioblastoma multiforme neoplastic meningitis with intrathecal delivery of an oncolytic recombinant poliovirus. *Clin Can Res*, 2006, vol. 12, 1349-54

- **OCHIAI H ; SA MOORE ; GE ARCHER ; T OKAMURA ; TA CHEWNING et al.** Treatment of intracerebral neoplasia and neoplastic meningitis with regional delivery of oncolytic recombinant poliovirus. *Clin Can Res*, 2004, vol. 10, 4831-8
- **TAKAI Y ; J MIYOSHI ; W IKEDA ; H OGITA.** Nectins and nectin-like molecules: roles in contact inhibition of cell movement and proliferation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, vol. 9, 603-15
- **TOYODA H ; J YIN ; S MUELLER ; E WIMMER ; J CELLO.** Oncolytic treatment and cure of neuroblastoma by a novel attenuated poliovirus in a novel poliovirus-susceptible animal model. *Cancer Res*, 2007, vol. 67, 2857-64
- **WAHID R ; MJ CANNON ; M CHOW.** Dendritic cells and macrophages are productively infected by poliovirus. *J Virol*, 2005, vol. 79, 401-9